

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2009年3月5日 (05.03.2009)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2009/028387 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 43/00 (2006.01) A61K 31/5375 (2006.01)
A61K 31/047 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/12 (2006.01) A61P 35/02 (2006.01)
A61K 31/165 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
A61K 31/216 (2006.01) C07D 213/30 (2006.01)
A61K 31/4402 (2006.01) C07D 213/40 (2006.01)
A61K 31/4406 (2006.01) C07D 217/06 (2006.01)
A61K 31/445 (2006.01) C07D 295/08 (2006.01)
A61K 31/472 (2006.01) C07D 295/16 (2006.01)
A61K 31/495 (2006.01)

(72) 発明者: および

(75) 発明者/出願人 (米国についてののみ): 中嶋 孝行
(NAKASHIMA, Takayuki), 塩津 行正 (SHOTSU,
Yukimasa).(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が
可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG,
BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE,
DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH,
GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM,
KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA,
MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI,
NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE,
SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ,
UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(21) 国際出願番号: PCT/JP2008/064887

(22) 国際出願日: 2008年8月21日 (21.08.2008)

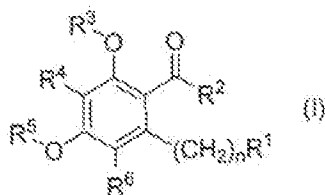
(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2007-217880 2007年8月24日 (24.08.2007) JP(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 協和
発酵キリン株式会社 (Kyowa Hakko Kirin Co., Ltd.)
[JPGP]: 〒1008185 東京都千代田区大手町一丁目6番
1号 Tokyo (JP).(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可
能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD,
SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY,
KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG,
CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU,
IE, IS, IT, LI, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE,
SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).添付公開書類:
— 国際調査報告書

(54) Title: THERAPEUTIC AGENT FOR CANCER WITH RESISTANCE TO PROTEASE INHIBITOR

(54) 発明の名称: プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌の治療薬

(57) Abstract: A therapeutic agent for cancers having resistance to protease in-
hibitors which contains, as a heat shock protein 90 (Hsp90) family protein inhibitor,
either a benzoyl compound represented by the formula (I) [wherein n is an integer of
1-5; R¹ represents (un)substituted lower alkyl, CONR² (wherein R² and R³ are the
same or different and each represents hydrogen, (un)substituted lower alkyl, etc.),
etc.; R² represents (un)substituted aryl, etc.; R³ and R⁴ are the same or different and
each represents hydrogen, (un)substituted lower alkyl, etc.; R⁵ represents hydrogen,
etc.; and R⁶ represents hydrogen, halogeno, (un)substituted lower alkyl, etc.] or a
pharmaceutically acceptable salt of the compound.(57) 要約: ヒートショック蛋白質90 (Hsp90) ファミリー蛋白質阻害剤として、式 (I) [式中、nは1~5の整数
を表し、R¹は置換もしくは非置換の低級アルキル、CONR² (式中、R²及びR³は同一または異なって、水素原子、
置換もしくは非置換の低級アルキル等を表す) 等を表し、R²は置換もしくは非置換のアリール等を表し、R³及び
R⁴は同一または異なって、水素原子、置換もしくは非置換の低級アルキル等を表し、R⁵は水素原子等を表し、R⁶
は水素原子、ハロゲン、置換もしくは非置換の低級アルキル等を表す] で表されるベンゾイル化合物またはその薬
学的に許容される塩を含有する、プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌の治療薬を提供する。

明 細 書

プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌の治療薬

技術分野

[0001] 本発明は、ヒートショック蛋白質90 (Hsp90) ファミリー蛋白質阻害剤を有効成分として含有する、プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌の治療薬等に関する。

背景技術

[0002] Hspは、細胞が熱ショック等のストレス環境にさらされたときに細胞内で発現する一連の蛋白質群であり、その分子量によってHsp90、Hsp70、Hsp60等のファミリーに分類される。これらの蛋白質は、分子シャペロン(chaperone)とも呼ばれ、一般的には蛋白質のフォールディング、膜透過、会合、凝集の抑制等がその主な機能と考えられている。

Hsp90は分子量約90 kDaのHspの総称であり、真核生物のHsp90ファミリーとして、Hsp90 α 、Hsp90 β 、Grp94、Hsp75/TRAP1等が同定されている。以下、これらHsp90ファミリーに属するHspを総称してHsp90と呼ぶ。

[0003] 近年、Hsp90が細胞増殖や癌化に関わる分子と特異的に複合体を形成し、細胞周期や増殖、細胞生存、細胞不死化、血管新生、転移浸潤等に関与していることが明らかにされている。Hsp90と特異的に複合体を形成する蛋白質は、Hsp90クライアント(client)蛋白質と呼ばれ、Hsp90クライアント蛋白質の細胞内での機能や安定性の保持には、Hsp90との結合が必要であると考えられている。

[0004] 近年、様々な癌の発生や悪性化に関与する分子機構や薬剤耐性のメカニズムが明らかにされるのに伴い、癌細胞及び腫瘍環境で発現する特異的な蛋白質の機能を直接制御することによって、癌の治療に結びつける分子標的療法の研究が盛んに行われている。幾つかの分子標的薬剤は既に臨床で応用され、高い有効性や既存の化学療法剤に比したときの比較的軽微な副作用等から注目されている。しかし、分子標的薬剤も化学療法剤と同様に、耐性癌が出現することが明らかになっている[Current Medicinal Chemistry, 第14巻、223-232頁(2007年)]。実際に、重要な分子標的である受容体型チロシンキナーゼ(EGF受容体、ErbB-2、KIT等)や遺伝子転座

に由来する融合蛋白質(Bcr-Abl等)についても、これらの分子標的薬剤の耐性化が臨床のヒト腫瘍で認められ、問題になっている。一方、上記のような受容体型チロシンキナーゼや融合蛋白質はHsp90のクライアント蛋白質であり、Hsp90阻害剤によって、これら受容体型チロシンキナーゼや融合蛋白質の分解が誘発され、機能が阻害されうる。

[0005] 慢性骨髄性白血病は、フィラデルフィア染色体と呼ばれる染色体転座 t(9;22)によって発症する白血病である。この遺伝子転座によって形成されるBcr-Ablの恒常的活性化が過剰な増殖作用や抗アポトーシス作用を示すため、慢性骨髄性白血病の原因と考えられている。イマチニブ(グリベック)は、このBcr-Ablの阻害剤であり、インターフェロン不応答の慢性骨髄性白血病患者に劇的な効果を示し、臨床で応用されている[New England Journal of Medicine, 第344巻、1084-1086頁(2001年); New England Journal of Medicine, 第344巻、1031-1037頁(2001年)]。しかしながら、慢性期の患者に対して効果は持続するものの、blast crisisの患者に対する効果は一過的であり、かつ、何れの場合も次第に耐性癌は出現する。耐性化の原因としては、Bcr-Ablの遺伝子増幅、キナーゼドメインの変異(T315IまたはE255K等の点変異)等によるイマチニブの感受性低下が報告されている[Blood, 第99巻、3472-3475頁(2002年); Leukemia, 第17巻、829-838頁(2003年)]。一方、Bcr-Ablは、Hsp90のクライアント蛋白質であることから、Hsp90阻害剤の処理で分解されることが報告されている[Blood, 第96巻、2284-2291頁(2000年)]。また、グルグナマイシンやその誘導体である17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin(17-AAG)は、変異型Bcr-Abl(T315IまたはE255Kの点変異)を発現させて自立増殖能を付与したBa/F3細胞株に対して、変異型Bcr-Ablの分解を誘導して増殖阻害を示すことが報告されている[Blood, 第100巻、3041-3044頁(2002年)]。そのため、イマチニブ耐性の慢性骨髄性白血病患者に対して17-AAGが有効であることが示唆されている。

[0006] 乳癌において、癌遺伝子であるher2/neu遺伝子の増幅が認められ、受容体型チロシンキナーゼHer2の過剰発現が誘導されている。そのため、Her2の過剰発現している乳癌において、細胞増殖、足場非依存性増殖及び造腫瘍能の亢進が起こっている。乳癌全体の25~30%でHer2の高発現が報告され、Her2の発現は予後不良因

子である[Science、第235巻、177-182頁(1987);Int. J. Cancer、第49巻、650-655頁]。このようなHer2の細胞外ドメインに特異的に結合するヒト型抗体のトラスツズマブ(ハーセプチン)は、Her2を発現する乳癌患者に臨床応用され、高い抗腫瘍効果を示すことが報告されている。しかし、単剤では30~40%の患者にのみ有効であり、かつ、化学療法剤との併用で効果が高くなるものの、何れの場合も持続的な処方によって耐性癌が出現することが報告されている[Journal of Clinical Oncology、第17巻、2639-2648頁(1999);New England Journal of Medicine、第344巻、783-792頁(2001年)]。トラスツズマブ耐性の機序については、PI3キナーゼの亢進、Insulin-like growth factor-1 (IGF-1)受容体の発現上昇等が挙げられるが詳細は不明である。臨床でトラスツズマブ耐性の患者から樹立された細胞株JMT-1に対して、トラスツズマブは生物学的な効果(Her2のダイマー形成、細胞内在化)を示さないが、17-AAGはトラスツズマブ感受性株SK-BR3と同等の効果を示すことが報告されている[Immunology Letters、第104巻、146-155頁(2006)]。

- [0007] Epidermal growth factor (EGF)受容体のチロシンキナーゼ阻害剤として、低分子化合物のゲフィチニブ(イレッサ)やエルロチニブ(タルセバ)が臨床応用されている。これらの薬剤は、非小細胞肺癌のうちEGF受容体に活性型変異(exon19欠失、点変異L858R等)のある患者に効果を示すものの、持続的な処方によってEGF受容体に二次的な変異(T790M点変異等)が出現し、耐性化することが報告されている。非小細胞肺癌でゲフィチニブやエルロチニブに効果を示していたが、持続的な処方では無効となった患者16人中7人において、二次的なT790M点変異が認められた[New England Journal of Medicine、第352巻、786-792頁(2005年);Clinical Cancer Research、第12巻、6494-6501頁(2007)]。一方、ゲルダナマイシンは、T790M点変異のEGF受容体を発現する非小細胞肺癌由来の細胞株NCI-H1975に対して、EGF受容体の分解を誘導することで細胞増殖阻害を示すことが報告されている[Cancer Research、第65巻、6401-6408頁(2005)]。Hsp90阻害剤は、EGF受容体チロシンキナーゼ阻害剤に耐性を示す非小細胞肺癌に有効であることが示唆されている。

- [0008] イマチニブは、Bcr-AblのみならずKIT(e-kit遺伝子産物)やplatelet-derived growth factor (PDGF)受容体を阻害することから、消化管間質腫瘍(Gastrointestinal strom

al tumor: GIST)の治療薬として臨床応用されている。GISTは、KITまたはPDGF受容体に変異が入り、これらが恒常的に活性化することで発症する癌種である。イマチニブを処方されたGIST患者の約80%が効果を得るが、KITのエクソン11(傍細胞膜領域)に変異(V560D点変異や欠失等)のある患者は、エクソン9に変異がある患者よりも高いレスポンスを示すことが報告されている[*Journal of Clinical Oncology*, 第21巻、4342-4349頁(2003)]。また、持続的な処方によって、イマチニブが無効になる2次的な変異が出現し、イマチニブ耐性が临床上問題になっている。イマチニブ耐性に関わる変異は、KITのATP結合ポケット(V654A, T670I点変異等)またはキナーゼ活性化ループ(C809G, D816H, D820A/E/G, N822K/Y, Y823D点変異等)に高頻度に認められる[*Journal of Clinical Oncology*, 第24巻、4764-4774頁(2006)]。また、イマチニブ無効の変異型KIT(V654A, T670I等)を発現する患者に対して、PDGF受容体とKIT阻害活性を有するスニチニブ(スニチン)が有効であり、臨床応用されている。しかしながら、スニチニブも、イマチニブ耐性に関わるPDGF受容体の変異体(D842V)には無効であることが報告されている[*Clinical Cancer Research*, 第12巻、2622-2627頁(2006)]。一方、17-AAGは、KITがクライアント蛋白質であることから蛋白質分解を介してKITを阻害する。そのため、イマチニブ耐性の変異型KITを発現する細胞株のGIST430(KIT V654A点変異)及びGIST48(KIT V560E, D820D点変異)に対しても、17-AAGが有効であることが報告されている[*Cancer Research*, 第66巻、9153-9161頁(2006)]。

- [0009] プロテアソーム阻害剤であるボルテゾミブ(ベルケータ)が多発性骨髄腫治療剤として承認され、臨床応用されている。ボルテゾミブは、不応・再発多発性骨髄腫の約35%に有効であるが、約40%には無効である。また、効果があった例でも約1年で耐性が出現し、ボルテゾミブ耐性は临床上課題になっている[*New England Journal of Medicine*, 第348巻、2609-2617頁(2003)]。17-AAGのPhase I試験が、不応・再発多発性骨髄腫を対象に実施され、一部の患者に有効性を示すことが報告された。22名中9名でstable disease(SD, 進行停止)以上の効果が認められた[*Blood*, 第106巻、要旨361(2005)]。また、Hsp90阻害剤PI-504のPhase I試験が、不応・再発多発性骨髄腫を対象に実施されている。抗腫瘍効果については、17例中3例でSDが認められる

のみである[Blood、第108巻、要旨3579(2006)]。上記のHsp90阻害剤単剤での臨床試験では、患者のボルテゾミブ治療歴が明確ではない(ボルテゾミブ耐性の患者を集めたわけではない)ので、Hsp90阻害剤とボルテゾミブ耐性の因果関係は不明である。また、不応・再発多発性骨髄腫の患者において、17-AAGとボルテゾミブ併用でのPhase 2試験が米国で実施されている。抗腫瘍効果については、23例中8例でpartial response(部分寛解)以上の効果が認められている。この試験が、ボルテゾミブ耐性の患者を集めた臨床試験ではないこと、ボルテゾミブ単独の抗腫瘍効果を見ている可能性もあるため、17-AAGの効果を正確に評価できていない[Blood、第108巻、要旨406(2006)]。

[0010] Hsp90阻害剤に耐性を示す分子機序についても論文で報告されている。アポトーシスを抑制する機能を持つBcl-2またはBcl-xLを遺伝子導入により高発現したヒト白血病細胞株は、遺伝子非導入株に比べ、Hsp90阻害剤である17-AAGによって誘導させるアポトーシスに耐性を示す(非特許文献1)。分子シャペロンHsp70の遺伝子導入により、Hsp70が高発現したヒト白血病細胞株は、遺伝子非導入株に比べ、17-AAGによって誘導されるアポトーシスに耐性を示す(非特許文献2)。分子シャペロンHsp27の遺伝子導入により、Hsp27が高発現したヒト固形癌細胞株は、コロニー形成アッセイにおいて、遺伝子非導入株に比べて、17-AAGによって誘導される増殖抑制作用に抵抗性を示す(非特許文献3)。これらの報告からは、癌細胞におけるHsp70、Hsp27およびBcl-2の発現上昇は、17-AAGに対する耐性に繋がることが示唆される。一方で、小細胞肺癌の細胞株に対するHsp90拮抗薬PU24FCIなどのアポトーシス誘導作用は、Hsp70の発現量に依存しないこと、また、同細胞株に対するHsp90拮抗薬のアポトーシス誘導作用はBcl-2の発現量に影響を受けないことも報告されている(非特許文献4)。そのため、癌細胞におけるHsp70およびBcl-2の発現上昇は、Hsp90拮抗剤の耐性に繋がると結論付けることはできていない。

[0011] 本発明で用いられる化合物を有効成分として含有するHsp90ファミリー蛋白質阻害剤及び抗腫瘍剤が知られている(特許文献1～3参照)。

特許文献1:国際公開第2005/000778号パンフレット

特許文献2:国際公開第2005/063222号パンフレット

特許文献3:国際公開第2006/088193号パンフレット

非特許文献1:ブラッド(Blood)、2003年、102巻、1号、p.269-275

非特許文献2:キャンサー・リサーチ(Cancer Research)、2005年、65巻、22号、p.10536-10544

非特許文献3:キャンサー・リサーチ(Cancer Research)、2006年、66巻、22号、p.10967-10975

非特許文献4:ネイチャー・ケミカル・バイオロジー(Nature Chemical Biology)、2007年、3巻、p.498-507

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0012] 本発明の目的は、Hsp90ファミリー蛋白質阻害剤を有効成分として含有する、プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌の治療薬等を提供することにある。

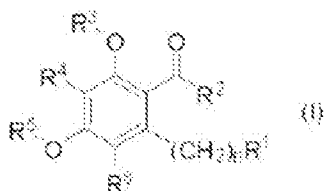
課題を解決するための手段

[0013] 本発明は以下の(1)～(56)に関する。

(1)ヒートショック蛋白質90(Hsp90)ファミリー蛋白質阻害剤を有効成分として含有する、プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌の治療薬。

(2)ヒートショック蛋白質90(Hsp90)ファミリー蛋白質阻害剤が式(I)

[0014] [化1]



[0015] [式中、nは1～5の整数を表し、

R¹は置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルコキシ、置換もしくは非置換のシクロアルキル、置換もしくは非置換の低級アルコキシカルボニル、置換もしくは非置換の複素環アルキル、置換もしくは非置換のアリール、CONR²R³(式中、R²及びR³は同一または異なって、水素原子、置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換のシクロアルキル、置換もしくは非置換の低級アルカノイ

ル、置換もしくは非置換のアリール、置換もしくは非置換の複素環基、置換もしくは非置換のアラルキル、置換もしくは非置換の複素環アルキルまたは置換もしくは非置換のアロイルを表すか、または R^7 と R^8 が隣接する窒素原子と一緒になって置換もしくは非置換の複素環基を形成する)または NR^9R^{10} (式中、 R^9 及び OR^{10} はそれぞれ前記 R^7 及び OR^8 と同義である)を表し、

R^7 は置換もしくは非置換のアリールまたは置換もしくは非置換の芳香族複素環基を表し、

R^8 及び OR^9 は同一または異なって、水素原子、置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルケニル、置換もしくは非置換の低級アルカノイル、置換もしくは非置換のシクロアルキル、置換もしくは非置換のアラルキルまたは置換もしくは非置換のアロイルを表し、

R^9 は水素原子、ヒドロキシまたはハロゲンを表し、

R^{10} は水素原子、ハロゲン、シアノ、ニトロ、置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルケニル、置換もしくは非置換の低級アルキニル、置換もしくは非置換の低級アルコキシ、置換もしくは非置換のシクロアルキル、アミノ、低級アルキルアミノ、ジ低級アルキルアミノ、カルボキシ、置換もしくは非置換の低級アルコキシカルボニル、置換もしくは非置換の低級アルカノイル、置換もしくは非置換のアリールオキシ、置換もしくは非置換のアリール、置換もしくは非置換の複素環基、置換もしくは非置換のアラルキルまたは置換もしくは非置換の複素環アルキルを表す]で表されるベンゾイル化合物またはその薬学的に許容される塩である(1)記載の治療薬。

[0016] (3) R^2 が1~3の置換基で置換されたアリールまたはアリールである(2)記載の治療薬。

。

(4) R^2 が1~3の置換基で置換されたフェニルまたはフェニルである(2)記載の治療薬。

。

(5) R^2 が低級アルコキシ及び/または複素環アルキルオキシで置換されたフェニルである(2)記載の治療薬。

(6) R^2 が置換もしくは非置換の芳香族複素環基である(2)記載の治療薬。

(7) R^3 及び R^4 が同一または異なって、水素原子、置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルカノイル、置換もしくは非置換のアロイルまたは置換もしくは非置換の低級アルケニルである(2)～(6)のいずれかに記載の治療薬。

(8) R^3 、 R^4 及び R^5 が水素原子である(2)～(6)のいずれかに記載の治療薬。

[0017] (9) R^1 が CONR^7R^8 (式中、 R^7 及び R^8 はそれぞれ前記と同義である) である(2)～(8)のいずれかに記載の治療薬。

(10) R^1 が $\text{CONR}^{7a}\text{R}^{8a}$ (式中、 R^{7a} 及び R^{8a} は同一または異なって、水素原子、置換もしくは非置換の低級アルキルまたは置換もしくは非置換の複素環アルキルを表す) である(2)～(8)のいずれかに記載の治療薬。

(11) R^1 が $\text{CONR}^{7b}\text{R}^{8b}$ (式中、 R^{7b} 及び R^{8b} は隣接する窒素原子と一緒になって置換もしくは非置換の複素環基を形成する) である(2)～(8)のいずれかに記載の治療薬。

(12) R^1 が $\text{CONR}^{7c}\text{R}^{8c}$ (式中、 R^{7c} 及び R^{8c} は同一または異なって、2-ヒドロキシエチルまたは2-メトキシエチルを表す) である(2)～(8)のいずれかに記載の治療薬。

(13) R^1 が置換もしくは非置換の低級アルコキシである(2)～(8)のいずれかに記載の治療薬。

(14) n が1である(2)～(13)のいずれかに記載の治療薬。

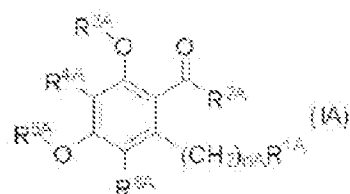
(15) R^2 が水素原子、低級アルキル、ハロゲンまたはアリールである(2)～(14)のいずれかに記載の治療薬。

(16) R^2 が低級アルキルである(2)～(14)のいずれかに記載の治療薬。

(17) R^2 がエチルである(2)～(14)のいずれかに記載の治療薬。

(18) ヒートショック蛋白質90 (Hsp90) ファミリー蛋白質阻害剤が式 (IA)

[0018] [化2]



[0019] [式中、 nA は0～10の整数を表し、

R^{1A} は水素原子、ヒドロキシ、シアノ、カルボキシ、ニトロ、ハロゲン、置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルケニル、置換もしくは非置換の低

級アルキニル、置換もしくは非置換の低級アルコキシ、置換もしくは非置換のシクロアルキル、置換もしくは非置換の低級アルコキシカルボニル、置換もしくは非置換の低級アルカノイルオキシ、置換もしくは非置換の複素環アルキル、置換もしくは非置換のアリール、置換もしくは非置換のアリールスルホニル、置換もしくは非置換の複素環基、 CONR^7R^8 (式中、 R^7 及び R^8 はそれぞれ前記と同義である) または NR^9R^{10} (式中、 R^9 及び R^{10} はそれぞれ前記と同義である) を表し、

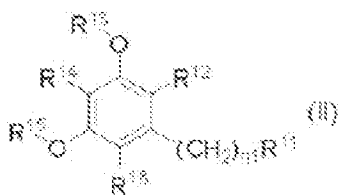
R^{24} は置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルケニル、置換もしくは非置換の低級アルキニル、置換もしくは非置換のシクロアルキル、置換もしくは非置換のアリールまたは置換もしくは非置換の複素環基を表し、

R^{25} 及び R^{26} は同一または異なって、水素原子、置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルケニル、置換もしくは非置換の低級アルカノイル、置換もしくは非置換のシクロアルキル、置換もしくは非置換のアラルキルまたは置換もしくは非置換のアロイルを表し、

R^{27} 及び R^{28} は同一または異なって、水素原子、ヒドロキシ、ハロゲン、シアノ、ニトロ、置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルケニル、置換もしくは非置換の低級アルキニル、置換もしくは非置換の低級アルコキシ、置換もしくは非置換のシクロアルキル、アミノ、低級アルキルアミノ、ジ低級アルキルアミノ、カルボキシ、置換もしくは非置換の低級アルコキシカルボニル、置換もしくは非置換の低級アルカノイル、置換もしくは非置換のアリールオキシ、置換もしくは非置換のアリール、置換もしくは非置換の複素環基、置換もしくは非置換のアラルキルまたは置換もしくは非置換の複素環アルキルを表す] で表されるベンゾイル化合物またはその薬学的に許容される塩である (1) 記載の治療薬。

(19) ヒートショック蛋白質 90 (Hsp90) ファミリー蛋白質阻害剤が式 (II)

[0020] [化3]



[0021] [式中、n1は0～10の整数を表し、

R^{11} は水素原子、ヒドロキシ、シアノ、カルボキシ、ニトロ、ハロゲン、置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルケニル、置換もしくは非置換の低級アルキニル、置換もしくは非置換のシクロアルキル、置換もしくは非置換の低級アルコキシカルボニル、置換もしくは非置換のアロイル、置換もしくは非置換の低級アルカノイル、置換もしくは非置換の複素環アルキル、置換もしくは非置換のアリール、置換もしくは非置換のアラルキル、置換もしくは非置換のアリールスルホニル、置換もしくは非置換の複素環基、 $\text{CONR}^{17}\text{R}^{18}$ (式中、 R^{17} 及び R^{18} は同一または異なって、水素原子、置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換のシクロアルキル、置換もしくは非置換の低級アルカノイル、置換もしくは非置換のアリール、置換もしくは非置換の複素環基、置換もしくは非置換のアラルキル、置換もしくは非置換の複素環アルキルまたは置換もしくは非置換のアロイルを表すか、または R^{17} と R^{18} が隣接する窒素原子と一緒になって置換もしくは非置換の複素環基を形成する)、 $\text{NR}^{19}\text{R}^{20}$ [式中、 R^{19} 及び R^{20} は同一または異なって、水素原子、置換もしくは非置換の低級アルキルスルホニル、置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換のシクロアルキル、置換もしくは非置換の低級アルカノイル、置換もしくは非置換のアリール、置換もしくは非置換の複素環基、置換もしくは非置換のアラルキル、置換もしくは非置換の複素環アルキル、置換もしくは非置換のアロイルまたは $\text{CONR}^{21}\text{R}^{22}$ (式中、 R^{21} 及び R^{22} はそれぞれ前記 R^{17} 及び R^{18} と同義である)を表すか、または R^{19} と R^{20} が隣接する窒素原子と一緒になって置換もしくは非置換の複素環基を形成する]または OR^{23} (式中、 R^{23} は置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルケニル、置換もしくは非置換の低級アルカノイル、置換もしくは非置換のアリール、置換もしくは非置換の複素環基、置換もしくは非置換のアラルキルまたは置換もしくは非置換の複素環アルキルを表す)を表し、

R^{12} は置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルケニル、置換もしくは非置換の低級アルキニル、置換もしくは非置換のアリールまたは置換もしくは非置換の複素環基を表し、

R^{13} 及び R^{14} は同一または異なって、水素原子、置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルケニル、置換もしくは非置換の低級アルカノイル、置

換もしくは非置換のシクロアルキル、置換もしくは非置換の低級アルキルスルホニル、置換もしくは非置換のアリールスルホニル、カルバモイル、スルファモイル、置換もしくは非置換の低級アルキルアミノカルボニル、置換もしくは非置換のジ低級アルキルアミノカルボニル、置換もしくは非置換の低級アルコキシカルボニル、置換もしくは非置換の複素環カルボニル、置換もしくは非置換のアラルキルまたは置換もしくは非置換のアロイルを表し、

R^{13} 及び R^{18} は同一または異なって、水素原子、ヒドロキシ、ハロゲン、シアノ、ニトロ、置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルケニル、置換もしくは非置換の低級アルキニル、置換もしくは非置換の低級アルコキシ、置換もしくは非置換のシクロアルキル、アミノ、低級アルキルアミノ、ジ低級アルキルアミノ、カルボキシ、置換もしくは非置換の低級アルコキシカルボニル、置換もしくは非置換のアリールオキシ、置換もしくは非置換のアリール、置換もしくは非置換の複素環基、置換もしくは非置換の低級アルカノイル、置換もしくは非置換のアラルキルまたは置換もしくは非置換の複素環アルキルを表す)で表されるベンゼン誘導体またはその薬学的に許容される塩である(1)記載の治療薬。

[0022] (20) R^{11} が水素原子、ヒドロキシ、シアノ、カルボキシ、ニトロ、ハロゲン、置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルキニル、置換もしくは非置換の低級アルコキシ、置換もしくは非置換のシクロアルキル、置換もしくは非置換の低級アルコキシカルボニル、置換もしくは非置換の低級アルカノイルオキシ、置換もしくは非置換の複素環アルキル、置換もしくは非置換のアリール、置換もしくは非置換のアリールスルホニル、 $\text{CONR}^{17}\text{R}^{18}$ (式中、 R^{17} 及び R^{18} はそれぞれ前記と同義である)または $\text{NR}^{19}\text{R}^{20}$ (式中、 R^{19} 及び R^{20} はそれぞれ前記と同義である)である(19)記載の治療薬。

(21) R^{11} が置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルキニル、置換もしくは非置換の低級アルコキシ、置換もしくは非置換のシクロアルキル、置換もしくは非置換の低級アルコキシカルボニル、置換もしくは非置換の複素環アルキル、置換もしくは非置換のアリール、 $\text{CONR}^{17}\text{R}^{18}$ (式中、 R^{17} 及び R^{18} はそれぞれ前記と同義である)または $\text{NR}^{19}\text{R}^{20}$ (式中、 R^{19} 及び R^{20} はそれぞれ前記と同義である)である(1

9)記載の治療薬。

(22) R^{12} が置換もしくは非置換のアリールまたは置換もしくは非置換の芳香族複素環基である(19)～(21)のいずれかに記載の治療薬。

(23) R^{12} が置換もしくは非置換のアリールである(19)～(21)のいずれかに記載の治療薬。

(24) R^{12} が置換もしくは非置換のフェニルである(19)～(21)のいずれかに記載の治療薬。

(25) R^{12} が置換もしくは非置換のフリルである(19)～(21)のいずれかに記載の治療薬。

(26) R^{13} が水素原子、ヒドロキシまたはハロゲンである(19)～(25)のいずれかに記載の治療薬。

(27) R^{13} 及び R^{14} が同一または異なって、水素原子、置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルケニル、置換もしくは非置換の低級アルカノイル、置換もしくは非置換のアロイル、置換もしくは非置換の低級アルキルアミノカルボニル、置換もしくは非置換のジ低級アルキルアミノカルボニル、置換もしくは非置換の低級アルコキシカルボニルまたは置換もしくは非置換の複素環カルボニルである(19)～(26)のいずれかに記載の治療薬。

(28) R^{13} 、 R^{14} 及び R^{15} が水素原子である(19)～(25)のいずれかに記載の治療薬。

[0023] (29) プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌が、プロテアーゼ阻害剤耐性を有する造血器腫瘍による癌、乳癌、子宮体癌、子宮頸癌、前立腺癌、膀胱癌、腎癌、胃癌、食道癌、肝癌、胆道癌、大腸癌、直腸癌、膵癌、肺癌、頭頸部癌、骨肉腫、メラノーマまたは脳腫瘍による癌である(1)～(28)のいずれかに記載の治療薬。

(30) プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌が、プロテアーゼ阻害剤耐性を有する白血病、骨髄腫またはリンパ腫である(1)～(28)のいずれかに記載の治療薬。

(31) プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌が、プロテアーゼ阻害剤耐性を有する多発性骨髄腫である(1)～(28)のいずれかに記載の治療薬。

(32) プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌が、Hsp70、Hsp27またはBcl-2の発現が上昇している癌である(1)～(28)のいずれかに記載の治療薬。

(33)プロテアーゼ阻害剤が、プロテアーゼ阻害活性を有する抗体である(1)～(32)のいずれかに記載の治療薬。

(34)プロテアーゼ阻害剤が、プロテアーゼ阻害活性を有する低分子化合物である(1)～(32)のいずれかに記載の治療薬。

(35)プロテアーゼ阻害剤が、マトリックスメタロプロテアーゼ(Matrix metalloprotease)阻害剤である(1)～(34)のいずれかに記載の治療薬。

(36)プロテアーゼ阻害剤が、ウロキナーゼプラスミノゲン活性化因子(Urokinase Plasminogen Activator)阻害剤である(1)～(34)のいずれかに記載の治療薬。

(37)プロテアーゼ阻害剤が、カテプシン(Cathepsin)阻害剤である(1)～(34)のいずれかに記載の治療薬。

(38)プロテアーゼ阻害剤が、プロテアソーム(Proteasome)阻害剤である(1)～(34)のいずれかに記載の治療薬。

(39)プロテアーゼ阻害剤が、アミノペプチダーゼ(Aminopeptidase)阻害剤である(1)～(34)のいずれかに記載の治療薬。

(40)プロテアソーム阻害剤がボルテゾミブである(38)記載の治療薬。

(41)プロテアソーム阻害剤がMG-132である(38)記載の治療薬。

[0024] (42)ヒートショック蛋白質90(Hsp90)ファミリー蛋白質阻害剤を、それを必要とする患者に投与する工程を含む、プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌の治療方法。

(43)ヒートショック蛋白質90(Hsp90)ファミリー蛋白質阻害剤が(2)～(17)のいずれかに記載のベンゾイル化合物またはその薬学的に許容される塩である、(42)に記載の治療方法。

(44)ヒートショック蛋白質90(Hsp90)ファミリー蛋白質阻害剤が(18)に記載のベンゾイル化合物またはその薬学的に許容される塩である、(42)に記載の治療方法。

(45)ヒートショック蛋白質90(Hsp90)ファミリー蛋白質阻害剤が(19)～(28)のいずれかに記載のベンゼン誘導体またはその薬学的に許容される塩である、(42)に記載の治療方法。

(46)プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌が(29)～(32)のいずれかに記載の癌である、(42)～(45)に記載の治療方法。

(47)プロテアーゼ阻害剤が(33)～(41)のいずれかである、(42)～(46)に記載の治療方法。

[0025] (48)プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌の治療剤の製造のための、ヒートショック蛋白質90(Hsp90)ファミリー蛋白質阻害剤の使用。

(49)ヒートショック蛋白質90(Hsp90)ファミリー蛋白質阻害剤が(2)～(17)のいずれかに記載のベンゾイル化合物またはその薬学的に許容される塩である、(48)に記載の使用。

(50)ヒートショック蛋白質90(Hsp90)ファミリー蛋白質阻害剤が(18)に記載のベンゾイル化合物またはその薬学的に許容される塩である、(48)に記載の使用。

(51)ヒートショック蛋白質90(Hsp90)ファミリー蛋白質阻害剤が(19)～(28)のいずれかに記載のベンゼン誘導体またはその薬学的に許容される塩である、(48)に記載の使用。

(52)プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌が(29)～(32)のいずれかに記載の癌である、(48)～(51)に記載の使用。

(53)プロテアーゼ阻害剤が(33)～(41)のいずれかである、(48)～(52)に記載の使用。

[0026] (54)ヒートショック蛋白質90(Hsp90)ファミリー蛋白質阻害剤として、(2)～(28)のいずれかに記載のベンゾイル化合物もしくはベンゼン誘導体またはその薬学的に許容される塩を有効成分として含有する、Hsp70、Hsp27またはBcl-2の発現が上昇している癌の治療薬。

(55)(2)～(28)のいずれかに記載のベンゾイル化合物もしくはベンゼン誘導体またはその薬学的に許容される塩を有効成分として含有するヒートショック蛋白質90(Hsp90)ファミリー蛋白質阻害剤を、それを必要とする患者に投与する工程を含む、Hsp70、Hsp27またはBcl-2の発現が上昇している癌の治療方法。

(56)Hsp70、Hsp27またはBcl-2の発現が上昇している癌の治療剤の製造のための、(2)～(28)のいずれかに記載のベンゾイル化合物もしくはベンゼン誘導体またはその薬学的に許容される塩を有効成分として含有するヒートショック蛋白質90(Hsp90)ファミリー蛋白質阻害剤の使用。

発明の効果

[0027] 本発明により、Hsp90ファミリー蛋白質阻害剤を有効成分として含有する、プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌の治療薬等が提供される。

図面の簡単な説明

[0028] [図1]図1は、KMS-11及びKMS-11/Borに対するMG-132の増殖阻害効果を示す。縦軸は生細胞の% controlを示す。横軸は化合物濃度を示す。○はKMS-11細胞に対する増殖阻害効果を、●はKMS-11/Borに対する増殖阻害効果を示す。

[図2]図2は、KMS-11及びKMS-11/Borに対するボルテゾミブの増殖阻害効果を示す。縦軸は生細胞の% controlを示す。横軸は化合物濃度を示す。○はKMS-11細胞に対する増殖阻害効果を、●はKMS-11/Borに対する増殖阻害効果を示す。

[図3]図3は、KMS-11及びKMS-11/Borに対する17-AAGの増殖阻害効果を示す。縦軸は生細胞の% controlを示す。横軸は化合物濃度を示す。○はKMS-11細胞に対する増殖阻害効果を、●はKMS-11/Borに対する増殖阻害効果を示す。

[図4]図4は、KMS-11及びKMS-11/Borに対する化合物22の増殖阻害効果を示す。縦軸は生細胞の% controlを示す。横軸は化合物濃度を示す。○はKMS-11細胞に対する増殖阻害効果を、●はKMS-11/Borに対する増殖阻害効果を示す。

[図5]図5は、OPM-2及びOPM-2/Borに対するMG-132の増殖阻害効果を示す。縦軸は生細胞の% controlを示す。横軸は化合物濃度を示す。○はOPM-2細胞に対する各化合物の増殖阻害効果を、●はOPM-2/Borに対する増殖阻害効果を示す。

[図6]図6は、OPM-2及びOPM-2/Borに対するボルテゾミブの増殖阻害効果を示す。縦軸は生細胞の% controlを示す。横軸は化合物濃度を示す。○はOPM-2細胞に対する各化合物の増殖阻害効果を、●はOPM-2/Borに対する増殖阻害効果を示す。

[図7]図7は、OPM-2及びOPM-2/Borに対する17-AAGの増殖阻害効果を示す。縦軸は生細胞の% controlを示す。横軸は化合物濃度を示す。○はOPM-2細胞に対する各化合物の増殖阻害効果を、●はOPM-2/Borに対する増殖阻害効果を示す。

[図8]図8は、OPM-2及びOPM-2/Borに対する化合物22の増殖阻害効果を示す。縦軸は生細胞の% controlを示す。横軸は化合物濃度を示す。○はOPM-2細胞に対する各化合物の増殖阻害効果を、●はOPM-2/Borに対する増殖阻害効果を示す。

[図9]図9は、OPM-2/Bor細胞移植マウスモデルにおける化合物22とボルテゾミブの抗腫瘍効果を示す。縦軸は0日目の腫瘍体積をV0としたときの腫瘍体積変化の比(V/V0)を示す。横軸は日数を示す。●は試験化合物非投与、▲はボルテゾミブ1 mg/kg投与、△はボルテゾミブ0.5 mg/kg投与、◆は化合物22 100 mg/kg投与、◇は化合物22 50 mg/kg投与における増殖阻害効果を示す。

[図10]図10は、OPM-2及びOPM-2/BorにおけるHsp70、Hsp27、Bcl-2及び β -Actinの発現量を示す。

発明を実施するための最良の形態

[0029] 以下、式(I)、(IA)及び(II)で表される化合物を化合物(I)、(IA)及び(II)という。他の式番号の化合物についても同様である。

式(I)、(IA)及び(II)の各基の定義において、

低級アルキル、低級アルコキシ、低級アルコキシカルボニル、低級アルキルアミノ、ジ低級アルキルアミノ、低級アルキルアミノカルボニル、ジ低級アルキルアミノカルボニル及び低級アルキルスルホニルの低級アルキル部分としては、例えば直鎖または分枝状の炭素数1～8のアルキルが挙げられ、具体的にはメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、ヘキシル、ヘプチル、オクチル等が挙げられる。ジ低級アルキルアミノ及びジ低級アルキルアミノカルボニルにおける2個の低級アルキル部分は同一でも異なってもよい。

[0030] 低級アルケニルとしては、例えば直鎖または分枝状の炭素数2～8のアルケニルが挙げられ、具体的にはビニル、アリル、1-プロペニル、メタクリル、クロチル、1-ブテニル、3-ブテニル、2-ペンテニル、4-ペンテニル、2-ヘキセニル、5-ヘキセニル、2-ヘプテニル、2-オクテニル等が挙げられる。

低級アルキニルとしては、例えば直鎖または分枝状の炭素数2～8のアルキニルが挙げられ、具体的にはエチニル、プロピニル、ブチニル、ペンチニル、ヘキシニル、ヘプチニル、オクチニル等が挙げられる。

[0031] 低級アルカノイル及び低級アルカノイルオキシの低級アルカノイル部分としては、例えば直鎖または分枝状の炭素数1～7のアルカノイルが挙げられ、具体的にはホル

ミル、アセチル、プロピオニル、ブチル、イソブチル、バレリル、イソバレリル、デカノイル、ヘキサノイル、ヘプタノイル等が挙げられる。

シクロアルキルとしては、例えば炭素数3～8のシクロアルキルが挙げられ、具体的にはシクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、シクロオクチル等が挙げられる。

[0032] アリール、アリールスルホニル、アリールオキシ及びアロイルのアリール部分としては、例えば炭素数6～14の単環式、二環式または三環式のアリールが挙げられ、具体的にはフェニル、インデニル、ナフチル、アントリル等が挙げられる。

アラルキルとしては、例えば炭素数7～15のアラルキルが挙げられ、具体的にはベンジル、フェネチル、ベンズヒドリル、ナフチルメチル等が挙げられる。

[0033] 芳香族複素環基としては、例えば窒素原子、酸素原子及び硫黄原子から選ばれる少なくとも1個の原子を含む5員または6員の単環性芳香族複素環基、3～8員の環が縮合した二環または三環性で窒素原子、酸素原子及び硫黄原子から選ばれる少なくとも1個の原子を含む縮環性芳香族複素環基等が挙げられ、具体的にはピリジル、ピラジニル、ピリミジニル、ピリダジニル、キノリニル、イソキノリニル、フトラジニル、キノゾリニル、キノキサリニル、ナフチリジニル、シンノリニル、ピロリル、ピラゾリル、イミダゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、チエニル、フリル、チアゾリル、オキサゾリル、インドリル、インダゾリル、ベンゾイミダゾリル、ベンゾトリアゾリル、ベンゾチアゾリル、ベンゾオキサゾリル、プリニル、ベンゾジオキサニル等が挙げられる。

[0034] 複素環基、複素環アルキル、複素環アルキルオキシ及び複素環カルボニルの複素環基部分としては、例えば前記芳香族複素環基の定義で挙げた基に加え、脂環式複素環基が挙げられる。脂環式複素環基としては、例えば窒素原子、酸素原子及び硫黄原子から選ばれる少なくとも1個の原子を含む5員または6員の単環性脂環式複素環基、3～8員の環が縮合した二環または三環性で窒素原子、酸素原子及び硫黄原子から選ばれる少なくとも1個の原子を含む縮環性脂環式複素環基等が挙げられ、具体的にはピロリジニル、ピペリジノ、ピペラジニル、ビペラジニル、モルホリノ、モルホリニル、チオモルホリノ、チオモルホリニル、ホモピペリジノ、ホモビペラジニル、ホモビペラジニル、テトラヒドロピリジニル、テトラヒドロキノリニル、テトラヒドロイソキノリニル

、テトラヒドロフランニル、テトラヒドロピラニル、ジヒドロベンゾフランニル、オキシピペラジニル、2-オキシピロリジニル、オキシラニル、ジオキシラニル等が挙げられる。

- [0035] 隣接する窒素原子と一緒に形成される複素環基としては、例えば少なくとも1個の窒素原子を含む5員または6員の単環性複素環基(該単環性複素環基は、他の窒素原子、酸素原子または硫黄原子を含んでいてもよい)、3~8員の環が縮合した二環または三環性で少なくとも1個の窒素原子を含む縮環性複素環基(該縮環性複素環基は、他の窒素原子、酸素原子または硫黄原子を含んでいてもよい)等が挙げられ、具体的にはピロリジニル、ピペリジノ、ピペラジニル、モルホリノ、チオモルホリノ、ホモピペリジノ、ホモピペラジニル、テトラヒドロピロリジニル、テトラヒドロキノリニル、テトラヒドロイソキノリニル、オキシピペラジニル、2-オキシピロリジニル等が挙げられる。

- [0036] 複素環アルキル及び複素環アルキルオキシのアルキレン部分は、前記低級アルキルの定義から水素原子を1つ除いたものと同義である。

ハロゲンとは、フッ素、塩素、臭素、ヨウ素の各原子を意味する。

置換低級アルキル、置換低級アルコキシ、置換低級アルコキシカルボニル、置換低級アルキルアミノカルボニル、低級アルキル(置換低級アルキル)アミノカルボニル、ジ置換低級アルキルアミノカルボニル、置換低級アルキルスルホニル、置換低級アルケニル及び置換低級アルキニルにおける置換基(A)としては、同一または異なって、例えば置換数1~3のヒドロキシ、オキシ、シアノ、ニトロ、カルボキシ、アミノ、ハロゲン、置換もしくは非置換の低級アルコキシ、シクロアルキル、低級アルカノイル、低級アルコキシカルボニル、低級アルキルアミノ、ジ低級アルキルアミノ、ヒドロキシ低級アルキルアミノカルボニル等が挙げられる。置換基の置換位置は、特に限定されない。ここでハロゲン、低級アルコキシ、シクロアルキル、低級アルカノイル、低級アルコキシカルボニル、低級アルキルアミノ及びジ低級アルキルアミノは、それぞれ前記と同義である。ヒドロキシ低級アルキルアミノカルボニルのアルキレン部分は、前記低級アルキルの定義から水素原子を1つ除いたものと同義である。置換低級アルコキシにおける置換基としては、同一または異なって、例えば置換数1~3のヒドロキシ、ハロゲン等が挙げられ、該ハロゲンは前記と同義である。ジ低級アルキルアミノにおける2個の低級アルキル部分は同一でも異なってもよい。

[0037] 置換低級アルカノイル、置換低級アルカノイルオキシ、置換シクロアルキル、置換アリール、置換アリールスルホニル、置換アリールオキシ、置換アラルキル、置換アロイル、置換フェニル、置換複素環基、置換複素環アルキル、置換フリル、置換複素環カルボニル、置換芳香族複素環基及び隣接する窒素原子と一緒に形成される置換複素環基における置換基(B)としては、同一または異なって、例えば置換数1～3のヒドロキシ、ハロゲン、ニトロ、シアノ、アミノ、カルボキシ、カルバモイル、置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルケニル、低級アルキルアミノカルボニル、ジ低級アルキルアミノカルボニル、置換もしくは非置換の低級アルコキシ、アラルキルオキシ、低級アルキルスルホニル、低級アルキルスルファニル、低級アルキルチオ、アリールオキシ、シクロアルキル、低級アルコキシカルボニル、低級アルキルアミノ、ジ低級アルキルアミノ、低級アルカノイル、複素環基、置換もしくは非置換のアリール、置換もしくは非置換の複素環アルキルオキシ、置換もしくは非置換の複素環カルボニルアルキルオキシ等が挙げられる。置換基の置換位置は、特に限定されない。ここでハロゲン、低級アルキル、低級アルケニル、低級アルキルアミノカルボニル、ジ低級アルキルアミノカルボニル、低級アルコキシ、アリールオキシ、シクロアルキル、低級アルコキシカルボニル、低級アルキルアミノ、ジ低級アルキルアミノ、低級アルカノイル、複素環基及びアリールは、それぞれ前記と同義であり、低級アルキルスルホニル、低級アルキルスルファニル及び低級アルキルチオの低級アルキル部分は前記低級アルキルと同義であり、アラルキルオキシのアラルキル部分は前記アリールと同義であり、複素環アルキルオキシ及び複素環カルボニルアルキルオキシの複素環基部分ならびにアルキレン部分はそれぞれ前記複素環基ならびに前記低級アルキルの定義から水素原子を1つ除いたものと同義である。置換低級アルキル、置換低級アルケニル、置換低級アルコキシ及び置換アリールにおける置換基としては、同一または異なって、例えば置換数1～3のヒドロキシ、カルボキシ、低級アルカノイル、ハロゲン、低級アルコキシ、シアノ、低級アルキルアミノ、ジ低級アルキルアミノ(ジ低級アルキルアミノにおける2個の低級アルキル部分は同一でも異なってもよい)等が挙げられ、該ハロゲン、低級アルカノイル、低級アルコキシ、低級アルキルアミノ及びジ低級アルキルアミノはそれぞれ前記と同義である。置換複素環アルキルオ

キシ及び置換複素環カルボニルアルキルオキシにおける置換基としては、同一または異なって、例えば置換数1〜3のヒドロキシ、ハロゲン、低級アルキル、低級アルコキシ、複素環基等が挙げられ、ここで示したハロゲン、低級アルキル、低級アルコキシ及び複素環基はそれぞれ前記と同義である。

[0038] 化合物(I)、(IA)及び(II)の薬学的に許容される塩は、例えば薬学的に許容される酸付加塩、金属塩、アンモニウム塩、有機アミン付加塩、アミノ酸付加塩等を包含する。

化合物(I)、(IA)及び(II)の薬学的に許容される酸付加塩としては、例えば塩酸塩、硫酸塩、硝酸塩、リン酸塩等の無機酸塩、酢酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、クエン酸塩等の有機酸塩が挙げられ、薬学的に許容される金属塩としては、例えばナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩、マグネシウム塩、カルシウム塩等のアルカリ土類金属塩、アルミニウム塩、亜鉛塩等が挙げられ、薬学的に許容されるアンモニウム塩としては、例えばアンモニウム、テトラメチルアンモニウム等の塩が挙げられ、薬学的に許容される有機アミン付加塩としては、例えばモルホリン、ピペリジン等の付加塩が挙げられ、薬学的に許容されるアミノ酸付加塩としては、例えばグリシン、フェニルアラニン、リジン、アスパラギン酸、グルタミン酸等の付加塩が挙げられる。

[0039] 化合物(I)、(IA)及び(II)の塩を取得したい場合には、化合物(I)、(IA)及び(II)が塩の形で得られるときはそのまま精製すればよく、また遊離の形で得られるときは適当な溶媒に化合物(I)、(IA)及び(II)を溶解または懸濁し、酸または塩基等を加え塩を形成させればよい。

化合物(I)、(IA)及び(II)には、位置異性体、幾何異性体または光学異性体等の異性体が存在し得るが、可能な異性体及び該異性体のいかなる比率における混合物も本発明の治療薬として用いることができる。

[0040] また、化合物(I)、(IA)、(II)、ならびにそれらの薬学的に許容される塩は、水または各種溶媒との付加物の形で存在することもあるが、それら付加物も本発明の治療薬として用いることができる。

Hsp90ファミリー蛋白質阻害とは、Hsp90ファミリー蛋白質とHsp90ファミリー蛋白質が結合する蛋白質(Hsp90 client protein)との結合を阻害することを意味する。

- [0041] Hsp90ファミリー蛋白質としては、例えばHsp90 α 蛋白質、Hsp90 β 蛋白質、grp94、Hsp75/TRAP1等が挙げられる。

Hsp90ファミリー蛋白質が結合する蛋白質は、Hsp90ファミリー蛋白質が結合する蛋白質であればいずれでもよいが、例えばEGF受容体、Erb-B2、Bcr-Abl、src、raf-1、AKT、Flt-3、PLK、Wee1、FAK、cMET、hTERT、HIF1- α 、変異p53、エストロゲン受容体、アンドロゲン受容体等が挙げられる[Expert Opinion on Biological Therapy, 第2巻、3-24頁(2002)]。

- [0042] Hsp90ファミリー蛋白質阻害剤としては、例えばラディシコール(Radicicol)、ゲルダナマイシン(Geldanamycin)、17-AAG、ハービマイシン(Herbimycin)A、ノボビオシン(Novobiocin)、化合物(I)、(IA)、(II)等が挙げられる。

Hsp70ファミリー蛋白質は、分子量約70 kDaのHspの総称であり、例えばHsp70、Hsc70、Bip/Grp78、miHsp70等が挙げられる。

- [0043] Hsp27ファミリー蛋白質は、分子量27 kDa付近のHspの総称であり、Hsp27蛋白質は、低分子のHspの一つである。

Bcl-2ファミリー蛋白質は、アポトーシスの制御に主要な役割を果たす蛋白質群である。

多くの癌治療剤において、長期の投薬により癌細胞が、その癌治療剤に対して耐性を獲得することが知られている。治療初期に認められた効果が持続的な投薬によって低下する、また、再発した場合に効果が認められなくなる、といった現象がしばしば観察される。従って、例えばプロテアーゼ阻害剤耐性の多発性骨髄腫を始め、抗腫瘍剤耐性の癌に効果を示す治療薬が必要とされている。

- [0044] プロテアーゼ(蛋白質分解酵素)は、蛋白質やペプチドのペプチド結合を加水分解する酵素のことで、様々な生理作用を有することが知られている。

プロテアーゼ阻害剤には、例えばマトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤、ウロキナーゼプラスミノゲン活性化因子阻害剤、カテプシン阻害剤、プロテアソーム阻害剤、アミノペプチダーゼ阻害剤等が含まれる。

- [0045] マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤としては、例えばBatimastat(BB-94)、Ionomastat(GM-6001)、Marimastat(BB-2516)、Tanomastat(BAY-12-9566)、Prinomastat(A

G-3340)、Metastat (COL-3)、Neovastat (AE-941)、BMS-275291、MMI-270B (CGS-27023A)、Trocade (Ro-32-3555)、MMI-166等が挙げられる[Nature Reviews: Cancer、6巻、227頁(2006年)]。

- [0046] ウロキナーゼプラスミノージェン活性化因子阻害剤としては、例えばWX-771 (WO2007/025718)、WX-671[Expert Opinion on Biological Therapy、6巻、257頁(2006年)]、WX-UK-1[Neoplasma、52巻、185頁(2005年)]、B-428[Neoplasma、52巻、185頁(2005年)]等が挙げられる。

カテプシン阻害剤としては、例えばAFG-495[AACR Annual Meeting、要旨2910(2005)]、E-64、CA030、CA074、NS-134、CLIK148[E-64、CA030、CA074、NS-134及びCLIK148の参考文献:Biochemical Journal、381巻、511頁(2004年)]等が挙げられる。

- [0047] プロテアソーム阻害剤[European Journal of Cancer、42巻、1623頁(2006年)]としては、例えばボルテゾミブ、MG-132、carfilzomib (PR-171、US2005/0245435)、NPI-0052[British Journal of Cancer、95巻、961頁(2006年)]、SC-68896 (WO2007/017284)、tyropeptin A、TP-110、TP-104 (WO2005/105826)、belactosin誘導体[Biochemical Pharmacology、67巻、227頁(2004年)]等が挙げられる。

- [0048] アミノペプチダーゼ阻害剤としては、例えばlubenimex (Bestatin)、TNP-470[Angiogenesis、7巻、91頁(2004年)]、PPI-2458[Clinical Cancer Research、12巻、2583頁(2006年)]、CHR-2797[Proceedings of the American Society for Clinical Oncology、25巻、要旨3053(2006年)]等が挙げられる。

本発明で用いられる化合物(i)及び(IA)またはそれらの薬学的に許容される塩は、例えばWO2005/000778記載の方法により合成することができる。

- [0049] 本発明で用いられる化合物(ii)またはその薬学的に許容される塩は、例えばWO2005/063222記載の方法により合成することができる。

以下の表1及び表2に本発明で用いられる化合物の具体例を示すが、本発明はそれらに限定されるものではない。なお、以下の表において、Pbはフェニルを表す。

表1記載の化合物1～22はWO2005/000778記載の方法により合成することができる。一方、表2記載の化合物23～37はWO2005/063222記載の方法により合成すること

ができる。

[0050] [表1-1]

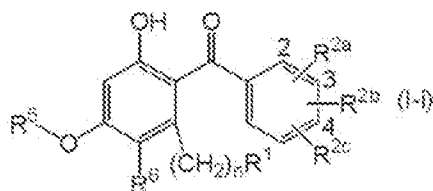
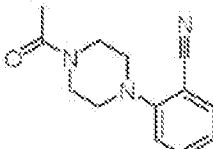
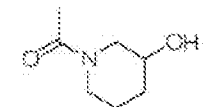
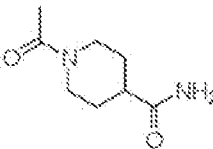
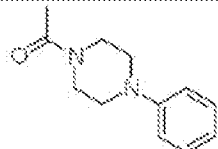
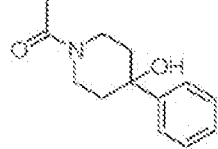
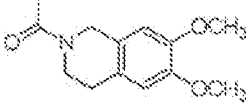





表 1-1

化 合 物	R^1	n	R^{2a}	R^{2b}	R^{2c}	R^5	R^6
1	OCH_3	2	H	H	H	H	H
2	OCH_3	2	H	H	H	H	Br
3	OCH_3	2	H	H	H	H	$COCH_3$
4	CO_2CH_3	1	3- OCH_3	H	H	H	CH_2CH_3
5	OCH_3	2	4- OCH_3	H	H	H	CH_2CH_3
6	OCH_3	2	4- NO_2	H	H	H	CH_2CH_3
7	$OCH_2CH_2OCH_3$	2	4- OCH_3	H	H	H	CH_2CH_3
8	$CON(CH_3)CH_2CH_2OH$	1	4- OCH_3	H	H	H	CH_2CH_3
9		1	4- OCH_3	H	H	H	CH_2CH_3
10	CO_2CH_3	1	4- OCH_3	H	H	$CH_2CH=CH_2$	H
11		1	4- OCH_3	H	H	H	CH_2CH_3
12		1	4- OCH_3	H	H	H	CH_2CH_3

[0051] [表1-2]

表 1-2

化合物	R^1	n	R^{2a}	R^{2b}	R^{2c}	R^5	R^6
13		1	4-OCH ₃	H	H	H	CH ₂ CH ₃
14		1	4-OCH ₃	H	H	H	CH ₂ CH ₃
15	OCH ₂ CH(OH)CH ₂ OH	2	2-F	4-OCH ₃	H	H	CH ₂ CH ₃
16		1	4-OCH ₃	H	H	H	CH ₂ CH ₃
17	OCH ₂ CH(OH)CH ₂ OH	2		4-OCH ₃	H	H	CH ₂ CH ₃
18	CON(CH ₂ CH ₂ OH) ₂	1	4-OCHF ₂	H	H	H	CH ₂ CH ₃
19	CON(CH ₂ CH ₂ OH)CH ₂ CH ₂ OCH ₃	1	4-SCH ₃	H	H	H	CH ₂ CH ₃
20	CON(CH ₂ CH ₂ OH) ₂	1	4-SO ₂ CH ₃	H	H	H	CH ₂ CH ₃
21	CON(CH ₂ CH ₂ OH)CH ₂ CH ₂ OCH ₃	1		4-OCH ₃	H	H	CH ₂ CH ₃
22	CON(CH ₂ CH ₂ OCH ₃) ₂	1	3-OCH ₃		H	H	CH ₂ CH ₃

[0052] [表2]

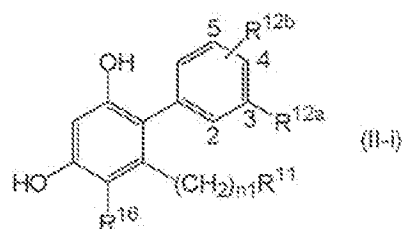
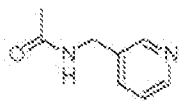




表 2

化合物	R ¹¹	n1	R ^{12a}	R ^{12b}	R ¹⁶
23	CO ₂ CH ₃	1	H	H	H
24	CO ₂ CH ₃	1	CH=CHCOCH ₃	H	H
25	CO ₂ CH ₃	1	(CH ₂) ₂ COCH ₃	H	H
26	CO ₂ CH ₃	1	COCH ₃	H	H
27	CONH(CH ₂) ₂ N(CH ₃) ₂	1	H	H	Br
28		1	H	H	Br
29		1	H	H	Br
30	CONH ₂	0	H	H	Br
31	CH=CHCO ₂ CH ₃	0	H	H	Br
32	OH	0	H	H	Br
33	CO ₂ CH ₃	1	CH ₂ CH ₂ CO ₂ H	H	Br
34	CO ₂ CH ₃	1	H	H	CH ₂ Ph
35	CO ₂ CH ₃	1	H	4-OPh	H
36	OCH ₂ CONHCH ₂ CH ₂ OH	3	H	H	CH ₂ CH ₃
37	OCH ₂ CH(OH)CH ₂ OH	2		H	CH ₂ CH ₃

[0053] 本発明の治療薬は、プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌の治療に対して用いることができ、例えばプロテアーゼ阻害剤耐性を有する、造血器腫瘍による癌(例えば急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、慢性リンパ性白血病等の白血病、多発性骨髄腫等の骨髄腫、リンパ腫等)、乳癌、子宮体癌、子宮頸癌、前立腺癌、膀胱癌、腎癌、胃癌、食道癌、肝癌、胆道癌、大腸癌、直腸癌、脾癌、肺癌

、頭頸部癌、骨肉腫、メラノーマまたは脳腫瘍による癌の治療に用いることができる。中でも、プロテアーゼ阻害剤耐性を有する白血病、骨髄腫、リンパ種等の治療に用いるのが好ましい。

[0054] 一方、本発明の治療薬は、Hsp70、Hsp27またはBcl-2の発現が上昇している癌の治療に対して用いることができ、好ましくは、プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌で、且つHsp70、Hsp27またはBcl-2の発現が上昇している癌の治療に用いることができる。さらに、好ましくは、Hsp70、Hsp27またはBcl-2の発現が上昇している多発性骨髄腫等の治療に用いることができる。

[0055] 本発明において、培養細胞株を用いてプロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌に有効な医薬組成物を評価することができる。または、培養細胞株を用いてHsp70、Hsp27またはBcl-2の発現が上昇している癌に有効な医薬組成物を評価することができる。

本発明における培養細胞株は、例えば、KMS-11細胞及びOPM-2細胞に、プロテアーゼ阻害剤耐性を獲得させた細胞等が挙げられる。KMS-11細胞、OPM-2細胞はヒト多発性骨髄腫の患者由来の細胞であり、German Collection of Microorganisms and Cell Cultures等の公的セルバンク、各種研究機関等から、または市販品として入手できる。KMS-11細胞及びOPM-2細胞の培養液に、プロテアーゼ阻害剤であるボルテゾミブを添加して、持続的に培養することによりプロテアーゼ阻害剤耐性を獲得させた、KMS-11/Bor及びOPM-2/Borの細胞株が得られた。プロテアーゼ阻害剤耐性を獲得したKMS-11/Bor細胞、OPM-2/Bor細胞は、プロテアーゼ阻害剤耐性癌のモデルになりうるものであり、さらに好ましくは、プロテアーゼ阻害剤耐性の多発性骨髄腫のモデルになりうるものである。

[0056] 本発明の医薬組成物の効果は、*in vitro*細胞増殖阻害活性を測定することによって、または動物モデルを用いた*in vivo*抗腫瘍活性を測定することによって調べることができる。*in vitro*細胞増殖阻害活性の測定方法としては、抗腫瘍剤耐性の癌細胞株を用いた、例えばプロテアーゼ阻害剤耐性の癌細胞を用いた実験を挙げることができる。動物モデルを用いた*in vivo*抗腫瘍活性を測定する試験としては、ヌードマウス等の免疫不全マウスに抗腫瘍剤耐性の癌細胞株を移植した、例えばプロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌細胞を移植したモデルが挙げられる。

[0057] 本発明において、プロテアーゼ阻害剤耐性を有する、癌組織由来の培養細胞株を用いて、Hsp90ファミリー蛋白質阻害剤のin vitro細胞増殖阻害活性を評価することで、または、動物モデルを用いてHsp90ファミリー蛋白質阻害剤を投与して評価することで、プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌に有用なHsp90ファミリー蛋白質阻害剤の医薬組成物をスクリーニングして、選択することができる。

[0058] 本発明において、Hsp70、Hsp27またはBcl-2の発現が上昇している、癌組織由来の培養細胞株を用いて、Hsp90ファミリー蛋白質阻害剤のin vitro細胞増殖阻害活性を評価することで、または、動物モデルを用いてHsp90ファミリー蛋白質阻害剤を投与して評価することで、Hsp70、Hsp27またはBcl-2の発現が上昇している癌に有用なHsp90ファミリー蛋白質阻害剤の医薬組成物をスクリーニングして、選択することができる。

[0059] 化合物(I)、(IA)、(II)またはそれらの薬学的に許容される塩は、そのまま単独で投与することも可能であるが、通常各種の医薬製剤として提供するのが望ましい。

本発明の治療薬は、活性成分として化合物(I)、(IA)、(II)またはそれらの薬学的に許容される塩を単独で、あるいは任意の他の治療のための有効成分との混合物として含有することができる。また、それら医薬製剤は、活性成分を薬学的に許容される一種もしくはそれ以上の担体と一緒に混合し、製剤学の技術分野においてよく知られている任意の方法により製造される。

[0060] 投与経路としては、治療に際し最も効果的なものを使用するのが望ましく、経口または、例えば静脈内等の非経口を挙げることができる。

これら製剤は、それぞれ有効成分の他に製剤学的に許容される希釈剤、賦形剤、崩壊剤、滑沢剤、結合剤、界面活性剤、水、生理食塩水、植物油、可溶化剤、等張化剤、保存剤、抗酸化剤等を用いて常法により作成することができる。

[0061] 錠剤の調製にあたっては、例えば乳糖等の賦形剤、澱粉等の崩壊剤、ステアリン酸マグネシウム等の滑沢剤、ヒドロキシプロピルセルロース等の結合剤、脂肪酸エステル等の界面活性剤、グリセリン等の可塑剤等を常法に従って用いればよい。

注射剤の調製にあたっては、水、生理食塩水、植物油、溶剤、可溶化剤、等張化剤、保存剤、抗酸化剤等を常法により用いればよい。

[0062] 化合物(I)、(IA)及び(II)またはそれらの薬学的に許容される塩は、上記の目的で用いる場合、通常、経口的、または注射剤等として非経口的に投与可能であり、その有効容量及び投与回数は投与形態、患者の年齢、体重、症状等により異なるが、通常一日当たり、0.01～20 mg/kgを投与するのが好ましい。

続いて、本発明の治療薬の効果について以下の試験例により具体的に説明する。なお、以下の試験例において、試験化合物としては、プロテアーゼ阻害剤であるボルテゾミブとMG-132を、Hsp90阻害剤の17-AAGと化合物22を用いた。化合物22のHsp90阻害活性は、WO2005/000778に記載されている。

[0063] 試験例1:ボルテゾミブ耐性を獲得したKMS-11細胞、OPM-2細胞の作製

KMS-11細胞を、10%牛胎児血清(FCS)を含むRPMI1640培地中で 5×10^4 細胞/mLの濃度に懸濁して、5%炭酸ガスインキュベーター内で37℃にて培養した。ボルテゾミブを最終濃度5 nmol/Lになるように添加して培養を継続した。細胞の生存が確認され、順調に増殖している細胞が確認できたなら、 5×10^4 細胞/mLの濃度に細胞を懸濁して、ボルテゾミブを10 nmol/Lになるように添加して培養を継続した。その後、細胞の生存が確認され、順調に増殖している細胞が確認できたなら、段階的にボルテゾミブの濃度を濃くしながら培養・継代を繰り返し、100 nmol/Lの濃度で増殖可能なボルテゾミブ耐性のKMS-11細胞を造成した。以下、作製された細胞を「KMS-11/Bor」と呼ぶ。

[0064] OPM-2細胞を、10%牛胎児血清(FCS)を含むRPMI1640培地中で 5×10^4 細胞/mLの濃度に懸濁して、5%炭酸ガスインキュベーター内で37℃にて培養した。ボルテゾミブを最終濃度2.5 nmol/Lになるように添加して培養を継続した。細胞の生存が確認され、順調に増殖している細胞が確認できたなら、ボルテゾミブを3.75 nmol/Lになるように添加して培養を継続した。その後、細胞の生存が確認され、順調に増殖している細胞が確認できたなら、段階的にボルテゾミブの濃度を濃くしながら培養・継代を繰り返し、15 nmol/Lの濃度で増殖可能なボルテゾミブ耐性のOPM-2細胞を造成した。以下、作製された細胞を「OPM-2/Bor」と呼ぶ。

[0065] 試験例2:KMS-11及びKMS-11/Borに対する増殖阻害試験

96穴マイクロプレート(ヌンク社製)中に、10%FCSを含むRPMI1640培地(以下、培地

)で 5×10^4 個/mLに懸濁したKMS-11またはKMS-11/Borの細胞溶液を90 μ L/wellずつ播種し、また、ブランクとして培地を100 μ L/wellずつ添加し、5%炭酸ガスインキュベーター内で5時間培養した。

- [0066] 試験化合物を段階的に希釈し、最終処理濃度の10倍濃度の薬剤希釈液を調製し、10 μ L/wellずつ添加した(1濃度につき $n=3$)。コントロールについては、薬剤を含まない培地を10 μ L/wellずつ添加した。コントロール及びブランクについて $n=8$ で実験を行った。薬剤を添加してから72時間培養後、生存細胞数をCell Proliferation Reagent WST-1 (WST-1試薬、Roche Diagnostics)を用いて測定した。WST-1試薬を、各プレートに10 μ L/wellずつ添加した。炭酸ガスインキュベーター内で、2時間培養後、プレートミキサーで攪拌し、マイクロプレート分光光度計(モレキュラーデバイス社製、SPECTRAMax340PC-384)を用い、450 nmと655 nmの吸光度を測定し、各ウェルにつき450 nmの吸光度から655 nmの吸光度を減じた値(差吸光度)を算出した。さらに差吸光度からブランクの差吸光度を減じて、生細胞数に相当する吸光度を算出した。

- [0067] IC_{50} の算出方法を以下に記す。試験化合物未処理のウェルで得られた生細胞数に相当する吸光度を100%とし、試験化合物を処理したウェルで得られた吸光度を相対値(% control)で表した。これらの数値を用いて、生細胞数の IC_{50} (生細胞数をコントロールの50%にまで減少させる濃度)を算出した。また、試験化合物を処理して得られた各薬剤濃度の% controlを図1~4に示した。各試験化合物の IC_{50} を表3に示した。さらに、各試験化合物のボルテゾミブ耐性度として、KMS-11/Borに対する IC_{50} を、KMS-11の IC_{50} で除した値(IC_{50} ratio)を表3に示した。

- [0068] ボルテゾミブ及びMG-132の IC_{50} ratioは21及び7.7であり、明らかにKMS-11/Borに対して増殖阻害効果の低下が認められた。一方、17-AAG及び化合物22の IC_{50} ratioは0.76及び0.96であり、KMS-11/Borに対して増殖阻害効果の低下が認められなかった。

以上より、Hsp90ファミリー蛋白質阻害剤は、プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌の治療に有用であることが明らかとなった。

- [0069] [表3]

表3: EMS-11及びEMS-11/Borに対する試験化合物の増殖阻害効果

試験化合物	IC ₅₀ (μmol/L)		IC ₅₀ ratio
	EMS-11	EMS-11/Bor	
MC-152	0.26	2.0	7.7
ボルテゾミブ	0.0082	0.17	21
17-AG	0.092	0.092	0.76
化合物 22	0.71	0.68	0.96

[0070] 試験例3: OPM-2及びOPM-2/Borに対する増殖阻害試験

96穴マイクロプレート(スルク社製)中に、10%FCSを含むRPMI1640培地(以下、培地)で 5×10^4 個/mLに懸濁したOPM-2またはOPM-2/Borの細胞溶液を90 μL/wellずつ播種し、また、ブランクとして培地を100 μL/wellずつ添加し、5%炭酸ガスインキュベーター内で5時間培養した。

[0071] 試験化合物を段階的に希釈し、最終処理濃度の10倍濃度の薬剤希釈液を調製し、10 μL/wellずつ添加した(1濃度につきn=3)。コントロールについては、薬剤を含まない培地を10 μL/wellずつ添加した。コントロール及びブランクについてn=8で実験を行った。薬剤を添加してから72時間培養後、生存細胞数をCell Proliferation Reagent WST-1 (WST-1試薬, Roche Diagnostics)を用いて測定した。WST-1試薬を、各プレートに10 μL/wellずつ添加した。炭酸ガスインキュベーター内で、2時間培養後、プレートミキサーで攪拌し、マイクロプレート分光光度計(モレキュラーデバイス社製、SPECTRAMax340PC-384)を用い、450 nmと655 nmの吸光度を測定し、各ウェルにつき450 nmの吸光度から655 nmの吸光度を減じた値(差吸光度)を算出した。さらに差吸光度からブランクの差吸光度を減じて、生細胞数に相当する吸光度を算出した。

[0072] IC₅₀の算出方法を以下に記す。試験化合物未処理のウェルで得られた生細胞数に相当する吸光度を100%とし、試験化合物を処理したウェルで得られた吸光度を相対値(% control)で表した。これらの数値を用いて、生細胞数のIC₅₀(生細胞数をコントロールの50%にまで減少させる濃度)を算出した。また、試験化合物を処理して得られた各薬剤濃度の% controlを図5~8に示した。各試験化合物のIC₅₀を表4に示した。さらに、各試験化合物のボルテゾミブ耐性度として、OPM-2/Borに対するIC₅₀を、OPM

-2の IC_{50} で除した値(IC_{50} ratio)を表4に示した。

- [0073] ボルテゾミブ及びMG-132の IC_{50} ratioは28及び16であり、明らかにOPM-2/Borに対して増殖阻害効果の感受性の低下が認められた。一方、17-AAG及び化合物22の IC_{50} ratioは1.1及び1.4であり、OPM-2/Borに対して感受性の低下が認められなかった。
- 以上より、Hsp90ファミリー蛋白質阻害剤は、プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌の治療に有用であることが明らかとなった。

[0074] [表4]

表4: OPM-2及びOPM-2/Borに対する試験化合物の増殖阻害効果

試験化合物	IC_{50} (μ mol/L)		IC_{50} ratio
	OPM-2	OPM/Vel-15	
MG-132	0.094	1.5	16
ボルテゾミブ	0.6029	0.11	28
17-AAG	0.31	0.35	1.1
化合物 22	0.24	0.38	1.4

[0075] 試験例4: OPM-2/Bor細胞移植マウスモデルにおける抗腫瘍効果

癌細胞移植前日にFox C.B-17/1cr-scidJclマウス(日本クレア)に抗アシアロGMI抗体を0.3 mg/マウスずつ腹腔内投与した。OPM-2/Bor細胞は、10%FCSを含むRPMI1640培地中、5%炭酸ガスインキュベーター内で37℃にて培養し増殖させ、マウス1匹あたり 1×10^7 細胞にて腹側皮下に移植した。移植18日後にノギスにて皮下で増殖した腫瘍の長径・短径を測定し、以下の式に従って腫瘍体積を求めた。

[0076] [数1]

$$\text{腫瘍体積} \quad (\text{mm}^3) = \frac{\text{長径} \quad (\text{mm}) \times \text{短径} \quad (\text{mm}) \times \text{短径} \quad (\text{mm})}{2}$$

[0077] 同時に各マウスの体重も測定し、平均腫瘍体積と平均体重が均一になるように1群5匹ずつ以下のような投与群に分け、この日を投与試験開始0日として投与を開始した。

化合物22は生理食塩水(大塚製薬社製)に10及び5 mg/mLの濃度で溶解させ、投与開始0から4日目まで連日1日2回、マウス体重1 gあたりそれぞれ0.01 mL(100及び

50 mg/kgに相当)の用量で、尾静脈より静脈内投与した。

[0078] ボルテゾミブは生理食塩水に0.1及び0.05 mg/mLの濃度で溶解させ、投与開始0、3、7及び10日目にそれぞれ1日1回、マウス体重1 gあたりそれぞれ0.01 mL (1及び0.5 mg/kgに相当)の用量で、尾静脈より静脈内投与した。ボルテゾミブの用量と投与スケジュールは、マウスモデルでボルテゾミブの抗腫瘍効果について報告されている論文情報を参考に、ボルテゾミブが著効を示した用量とスケジュールを選択した[Cancer Research、第62巻、4996-5000頁(2002)]

A. 陰性対照群(Control): 試験化合物非投与

B. ボルテゾミブ投与群: 1 mg/kg (1日1回/0、3、7、10日目に投与)

C. ボルテゾミブ投与群: 0.5 mg/kg (1日1回/0、3、7、10日目に投与)

D. 化合物22投与群: 100 mg/kg (1日2回×5日間)

E. 化合物22投与群: 50 mg/kg (1日2回×5日間)

0日目以降、週に2回腫瘍体積の測定を行った。抗腫瘍効果の判定は各群の腫瘍体積の平均値を算出し、0日目の腫瘍体積をV0としたときの腫瘍体積変化(V/V0)の比較で行った。経日測定した各群のV/V0を図9に示す。

[0079] 図9に示したように、化合物22は、用量依存的に強い増殖抑制効果を示すと共に、腫瘍縮小効果も示した。一方、ボルテゾミブは明らかな増殖抑制効果を示さなかった。すなわち、Hsp90ファミリー蛋白質阻害剤である化合物22は、ボルテゾミブが無効である細胞移植マウスモデルにおいて高い抗腫瘍効果を有していた。

14日目の各群のV/V0を陰性対照群のV/V0で除した値(T/C)を表5に示す。化合物22投与群のT/Cは、D群で0.092、E群で0.24であり、腫瘍増殖を有意に抑制した。ボルテゾミブ投与群のT/Cは、B群で0.85、C群で1.0であり、陰性対照群と同等であった。

[0080] [表5]

表5: 各群のT/C

A. 陰性対照	B. 試験化合物	C. 試験化合物	D. 試験化合物	E. 試験化合物
1.0	0.85	1.0	0.092	0.24

[0081] 以上より、Hsp90ファミリー蛋白質阻害剤は、プロテアーゼ耐性を有する癌の治療に有用であることが明らかとなった。

[0082] 試験例5: OPM-2およびOPM-2/BorにおけるHsp70、Hsp27、Bcl-2及び β -Actinの発現量の比較試験

6穴マイクロプレート(コーニングインターナショナル社製)中に、10%FCSを含むRPMI H640培地(以下、培地)で 2×10^5 個/mLに懸濁したOPM-2またはOPM-2/Borの細胞溶液を2 mL/wellずつ播種し、5%炭酸ガスインキュベーター内で24時間培養した。細胞を沈殿物として回収したあと、1%protease inhibitor cocktail(シグマアルドリッチ社製)及び1 mmol/Lフッ化フェニルメチルスルホニル(PMSF)を含むNP40 cell lysis buffer(インビトロジェン社製)を用い、氷上において細胞を30分間溶解させた後、15 000Gで10分間遠心した。得られた上清の蛋白質濃度を測定し、各レーンあたり同一蛋白質量になるよう試料を調製した後、SDS-PAGEにより蛋白質の分離を行なった。分離された蛋白質試料は、ポリフッ化ビニリデン(PVDF)膜(ミリポア社)に移した後、1次抗体として、抗Hsp70抗体(SPA-810、アッセイデザイン社製)、抗Hsp27抗体(#2402、セルシグナリングテクノロジー社製)、抗Bcl-2抗体(sc-509、サンタクルズバイオテクノロジー社製)または抗 β -Actin抗体(AC-15、シグマアルドリッチ社製)を加え、膜上の蛋白質と反応させた。その後、2次抗体として、それぞれの1次抗体と反応する西洋ワサビペルオキシダーゼ(Horseradish Peroxidase)標識2次抗体(抗ウサギIg抗体、または抗マウスIg抗体、GEヘルスケアバイオサイエンス社製)を反応させた。検出はECL試薬(No. 34080、ピアスバイオテクノロジー社製)を用いて行ない、X線フィルム上で得られたバンドを検分し、OPM-2およびOPM-2/Borで発現しているHsp70、Hsp27、Bcl-2及び β -Actinの蛋白質量を比較した。結果を図10に示す。図10によれば、両細胞株間で β -Actinの発現量に差はないが、OPM-2に比べ、OPM-2/Borにおいて、Hsp70、Hsp27及びBcl-2の発現量が上昇していることが明らかとなった。これら蛋白質の発現上昇が、ボルテゾミブ耐性に寄与していると考えられる。

[0083] 以上の結果より、本発明の治療薬は、Hsp70、Hsp27及びBcl-2の発現が上昇した癌の治療に有効であることが明らかとなった。さらに、Hsp90ファミリー蛋白質阻害剤はプロテアーゼ阻害剤耐性を有し、Hsp70、Hsp27及びBcl-2の発現が上昇した癌の

治療に有効であることが明らかとなった。

実施例 1

[0084] 製剤例1(錠剤)

常法により、次の組成からなる錠剤を調製する。

化合物1	5 mg
乳糖	60 mg
馬鈴薯澱粉	30 mg
ポリビニルアルコール	2 mg
ステアリン酸マグネシウム	1 mg
タール色素	微量

実施例 2

[0085] 製剤例2(注射剤)

常法により、次の組成からなる注射剤を調製する。

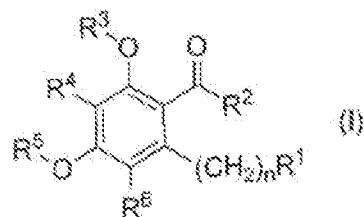
化合物17	2 mg
D-マンニトール	10 mg
塩酸水溶液	適量
水酸化ナトリウム水溶液	適量
注射用蒸留水	適量

産業上の利用可能性

- [0086] 本発明により、Hsp90ファミリー蛋白質阻害剤を有効成分として含有する、プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌の治療薬等が提供される。

請求の範囲

- [1] ヒートショック蛋白質90 (Hsp90) ファミリー蛋白質阻害剤を有効成分として含有する、プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌の治療薬。
- [2] ヒートショック蛋白質90 (Hsp90) ファミリー蛋白質阻害剤が式(I)
- [化4]



[式中、nは1～5の整数を表し、

R^1 は置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルコキシ、置換もしくは非置換のシクロアルキル、置換もしくは非置換の低級アルコキシカルボニル、置換もしくは非置換の複素環アルキル、置換もしくは非置換のアリール、 $CONR^7$ 、 R^8 (式中、 R^7 及び R^8 は同一または異なって、水素原子、置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換のシクロアルキル、置換もしくは非置換の低級アルカノイル、置換もしくは非置換のアリール、置換もしくは非置換の複素環基、置換もしくは非置換のアラルキル、置換もしくは非置換の複素環アルキルまたは置換もしくは非置換のアロイルを表すか、または R^7 と R^8 が隣接する窒素原子と一緒になって置換もしくは非置換の複素環基を形成する) または NR^9R^{10} (式中、 R^9 及び R^{10} はそれぞれ前記 R^7 及び R^8 と同義である) を表し、

R^2 は置換もしくは非置換のアリールまたは置換もしくは非置換の芳香族複素環基を表し、

R^3 及び R^5 は同一または異なって、水素原子、置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルケニル、置換もしくは非置換の低級アルカノイル、置換もしくは非置換のシクロアルキル、置換もしくは非置換のアラルキルまたは置換もしくは非置換のアロイルを表し、

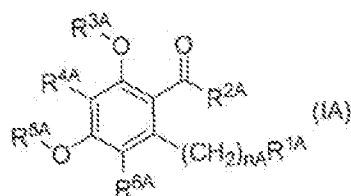
R^4 は水素原子、ヒドロキシまたはハロゲンを表し、

R^6 は水素原子、ハロゲン、シアノ、ニトロ、置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルケニル、置換もしくは非置換の低級アルキニル、置換もしくは非置換の低級アルコキシ、置換もしくは非置換のシクロアルキル、アミノ、低級アルキルアミノ、ジ低級アルキルアミノ、カルボキシ、置換もしくは非置換の低級アルコキシカルボニル、置換もしくは非置換の低級アルカノイル、置換もしくは非置換のアリールオキシ、置換もしくは非置換のアリール、置換もしくは非置換の複素環基、置換もしくは非置換のアラルキルまたは置換もしくは非置換の複素環アルキルを表す]で表されるベンゾイル化合物またはその薬学的に許容される塩である請求項1記載の治療薬。

- [3] R^2 が1～3の置換基で置換されたアリールまたはアリールである請求項2記載の治療薬。
- [4] R^2 が1～3の置換基で置換されたフェニルまたはフェニルである請求項2記載の治療薬。
- [5] R^2 が低級アルコキシ及び/または複素環アルキルオキシで置換されたフェニルである請求項2記載の治療薬。
- [6] R^2 が置換もしくは非置換の芳香族複素環基である請求項2記載の治療薬。
- [7] R^3 及び ϕR^3 が同一または異なって、水素原子、置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルカノイル、置換もしくは非置換のアロイルまたは置換もしくは非置換の低級アルケニルである請求項2～6のいずれかに記載の治療薬。
- [8] R^3 、 R^4 及び ϕR^3 が水素原子である請求項2～6のいずれかに記載の治療薬。
- [9] R^1 が CONR^7R^8 (式中、 R^7 及び ϕR^8 はそれぞれ前記と同義である)である請求項2～8のいずれかに記載の治療薬。
- [10] R^1 が $\text{CONR}^{7a}\text{R}^{8a}$ (式中、 R^{7a} 及び ϕR^{8a} は同一または異なって、水素原子、置換もしくは非置換の低級アルキルまたは置換もしくは非置換の複素環アルキルを表す)である請求項2～8のいずれかに記載の治療薬。
- [11] R^1 が $\text{CONR}^{7b}\text{R}^{8b}$ (式中、 R^{7b} 及び ϕR^{8b} は隣接する窒素原子と一緒に置換もしくは非置換の複素環基を形成する)である請求項2～8のいずれかに記載の治療薬。
- [12] R^1 が $\text{CONR}^{7c}\text{R}^{8c}$ (式中、 R^{7c} 及び ϕR^{8c} は同一または異なって、2-ヒドロキシエチルまたは2

ートキシエチルを表す)である請求項2～8のいずれかに記載の治療薬。

- [13] R^1 が置換もしくは非置換の低級アルコキシである請求項2～8のいずれかに記載の治療薬。
 - [14] n が1である請求項2～13のいずれかに記載の治療薬。
 - [15] R^6 が水素原子、低級アルキル、ハロゲンまたはアリールである請求項2～14のいずれかに記載の治療薬。
 - [16] R^6 が低級アルキルである請求項2～14のいずれかに記載の治療薬。
 - [17] R^6 がエチルである請求項2～14のいずれかに記載の治療薬。
 - [18] ヒートショック蛋白質90 (Hsp90) ファミリー蛋白質阻害剤が式 (IA)
- [化5]



[式中、 nA は0～10の整数を表し、

R^{1A} は水素原子、ヒドロキシ、シアノ、カルボキシ、ニトロ、ハロゲン、置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルケニル、置換もしくは非置換の低級アルキニル、置換もしくは非置換の低級アルコキシ、置換もしくは非置換のシクロアルキル、置換もしくは非置換の低級アルコキシカルボニル、置換もしくは非置換の低級アルカノイルオキシ、置換もしくは非置換の複素環アルキル、置換もしくは非置換のアリール、置換もしくは非置換のアリールスルホニル、置換もしくは非置換の複素環基、 $CONR^7R^8$ (式中、 R^7 及び R^8 はそれぞれ前記と同義である) または NR^9R^{10} (式中、 R^9 及び R^{10} はそれぞれ前記と同義である) を表し、

R^{2A} は置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルケニル、置換もしくは非置換の低級アルキニル、置換もしくは非置換のシクロアルキル、置換もしくは非置換のアリールまたは置換もしくは非置換の複素環基を表し、

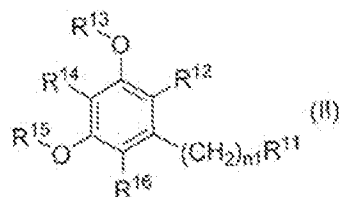
R^{3A} 及び R^{5A} は同一または異なって、水素原子、置換もしくは非置換の低級アルキル、

置換もしくは非置換の低級アルケニル、置換もしくは非置換の低級アルカノイル、置換もしくは非置換のシクロアルキル、置換もしくは非置換のアラルキルまたは置換もしくは非置換のアロイルを表し、

R^{14} 及び OR^{14} は同一または異なって、水素原子、ヒドロキシ、ハロゲン、シアノ、ニトロ、置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルケニル、置換もしくは非置換の低級アルキニル、置換もしくは非置換の低級アルコキシ、置換もしくは非置換のシクロアルキル、アミノ、低級アルキルアミノ、ジ低級アルキルアミノ、カルボキシ、置換もしくは非置換の低級アルコキシカルボニル、置換もしくは非置換の低級アルカノイル、置換もしくは非置換のアリールオキシ、置換もしくは非置換のアリール、置換もしくは非置換の複素環基、置換もしくは非置換のアラルキルまたは置換もしくは非置換の複素環アルキルを表す]で表されるベンゾイル化合物またはその薬学的に許容される塩である請求項1記載の治療薬。

[19] ヒートショック蛋白質90 (Hsp90) ファミリー蛋白質阻害剤が式 (II)

[化6]



[式中、 n]は0～10の整数を表し、

R^{11} は水素原子、ヒドロキシ、シアノ、カルボキシ、ニトロ、ハロゲン、置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルケニル、置換もしくは非置換の低級アルキニル、置換もしくは非置換のシクロアルキル、置換もしくは非置換の低級アルコキシカルボニル、置換もしくは非置換のアロイル、置換もしくは非置換の低級アルカノイル、置換もしくは非置換の複素環アルキル、置換もしくは非置換のアリール、置換もしくは非置換のアラルキル、置換もしくは非置換のアリールスルホニル、置換もしくは非置換の複素環基、 $CONR^{17}R^{18}$ (式中、 R^{17} 及び OR^{18} は同一または異なって、水素原子、置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換のシクロアルキル、置換もしくは非置換の低級アルカノイル、置換もしくは非置換のアリール、置換もし

くは非置換の複素環基、置換もしくは非置換のアラルキル、置換もしくは非置換の複素環アルキルまたは置換もしくは非置換のアロイルを表すか、または R^{17} と R^{18} が隣接する窒素原子と一緒になって置換もしくは非置換の複素環基を形成する)、 $NR^{16}R^{20}$ 〔式中、 R^{19} 及び OR^{20} は同一または異なって、水素原子、置換もしくは非置換の低級アルキルスルホニル、置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換のシクロアルキル、置換もしくは非置換の低級アルカノイル、置換もしくは非置換のアリール、置換もしくは非置換の複素環基、置換もしくは非置換のアラルキル、置換もしくは非置換の複素環アルキル、置換もしくは非置換のアロイルまたは $CONR^{21}R^{22}$ （式中、 R^{21} 及び R^{22} はそれぞれ前記 R^{17} 及び OR^{18} と同義である）を表すか、または R^{19} と R^{20} が隣接する窒素原子と一緒になって置換もしくは非置換の複素環基を形成する〕または OR^{23} （式中、 R^{23} は置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルケニル、置換もしくは非置換の低級アルカノイル、置換もしくは非置換のアリール、置換もしくは非置換の複素環基、置換もしくは非置換のアラルキルまたは置換もしくは非置換の複素環アルキルを表す）を表し、

R^{16} は置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルケニル、置換もしくは非置換の低級アルキニル、置換もしくは非置換のアリールまたは置換もしくは非置換の複素環基を表し、

R^{17} 及び OR^{18} は同一または異なって、水素原子、置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルケニル、置換もしくは非置換の低級アルカノイル、置換もしくは非置換のシクロアルキル、置換もしくは非置換の低級アルキルスルホニル、置換もしくは非置換のアリールスルホニル、カルバモイル、スルファモイル、置換もしくは非置換の低級アルキルアミノカルボニル、置換もしくは非置換のジ低級アルキルアミノカルボニル、置換もしくは非置換の低級アルコキシカルボニル、置換もしくは非置換の複素環カルボニル、置換もしくは非置換のアラルキルまたは置換もしくは非置換のアロイルを表し、

R^{14} 及び OR^{15} は同一または異なって、水素原子、ヒドロキシ、ハロゲン、シアノ、ニトロ、置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルケニル、置換もしくは非置換の低級アルキニル、置換もしくは非置換の低級アルコキシ、置換もしくは

非置換のシクロアルキル、アミノ、低級アルキルアミノ、ジ低級アルキルアミノ、カルボキシ、置換もしくは非置換の低級アルコキシカルボニル、置換もしくは非置換のアリーロキシ、置換もしくは非置換のアリール、置換もしくは非置換の複素環基、置換もしくは非置換の低級アルカノイル、置換もしくは非置換のアラルキルまたは置換もしくは非置換の複素環アルキルを表す]で表されるベンゼン誘導体またはその薬学的に許容される塩である請求項1記載の治療薬。

- [20] R^{11} が水素原子、ヒドロキシ、シアノ、カルボキシ、ニトロ、ハロゲン、置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルキニル、置換もしくは非置換の低級アルコキシ、置換もしくは非置換のシクロアルキル、置換もしくは非置換の低級アルコキシカルボニル、置換もしくは非置換の低級アルカノイルオキシ、置換もしくは非置換の複素環アルキル、置換もしくは非置換のアリール、置換もしくは非置換のアリールスルホニル、 $CONR^{17}R^{18}$ (式中、 R^{17} 及び R^{18} はそれぞれ前記と同義である) または $NR^{19}R^{20}$ (式中、 R^{19} 及び R^{20} はそれぞれ前記と同義である) である請求項19記載の治療薬。
- [21] R^{11} が置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルキニル、置換もしくは非置換の低級アルコキシ、置換もしくは非置換のシクロアルキル、置換もしくは非置換の低級アルコキシカルボニル、置換もしくは非置換の複素環アルキル、置換もしくは非置換のアリール、 $CONR^{17}R^{18}$ (式中、 R^{17} 及び R^{18} はそれぞれ前記と同義である) または $NR^{19}R^{20}$ (式中、 R^{19} 及び R^{20} はそれぞれ前記と同義である) である請求項19記載の治療薬。
- [22] R^{12} が置換もしくは非置換のアリールまたは置換もしくは非置換の芳香族複素環基である請求項19～21のいずれかに記載の治療薬。
- [23] R^{12} が置換もしくは非置換のアリールである請求項19～21のいずれかに記載の治療薬。
- [24] R^{12} が置換もしくは非置換のフェニルである請求項19～21のいずれかに記載の治療薬。
- [25] R^{12} が置換もしくは非置換のフリルである請求項19～21のいずれかに記載の治療薬。

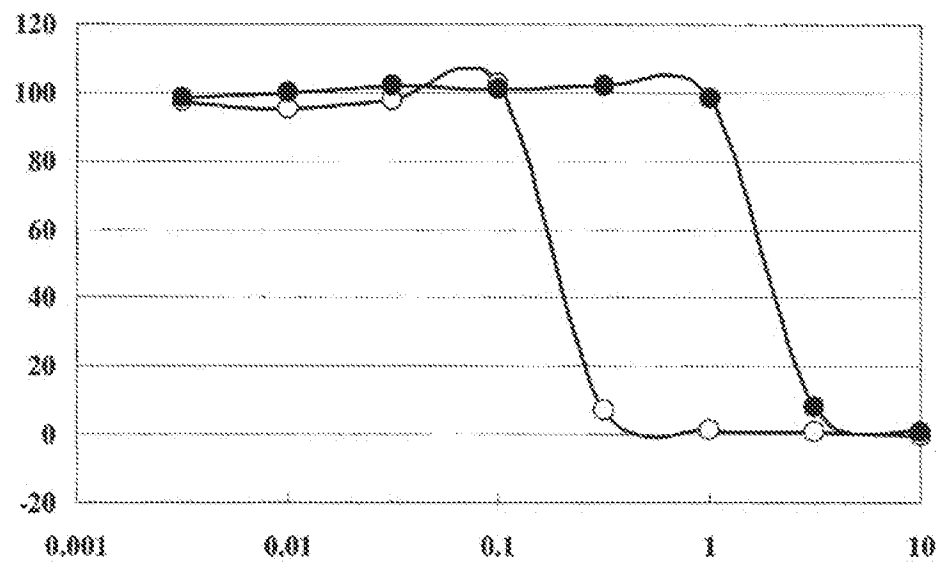
- [26] R^{14} が水素原子、ヒドロキシまたはハロゲンである請求項19～25のいずれかに記載の治療薬。
- [27] R^{12} 及 OR^{12} が同一または異なって、水素原子、置換もしくは非置換の低級アルキル、置換もしくは非置換の低級アルケニル、置換もしくは非置換の低級アルカノイル、置換もしくは非置換のアロイル、置換もしくは非置換の低級アルキルアミノカルボニル、置換もしくは非置換のジ低級アルキルアミノカルボニル、置換もしくは非置換の低級アルコキシカルボニルまたは置換もしくは非置換の複素環カルボニルである請求項19～26のいずれかに記載の治療薬。
- [28] R^{13} , R^{14} 及 OR^{15} が水素原子である請求項19～25のいずれかに記載の治療薬。
- [29] プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌が、プロテアーゼ阻害剤耐性を有する造血器腫瘍による癌、乳癌、子宮体癌、子宮頸癌、前立腺癌、膀胱癌、腎癌、胃癌、食道癌、肝癌、胆道癌、大腸癌、直腸癌、脾癌、肺癌、頭頸部癌、骨肉腫、メラノーマまたは脳腫瘍による癌である請求項1～28のいずれかに記載の治療薬。
- [30] プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌が、プロテアーゼ阻害剤耐性を有する白血病、骨髄腫またはリンパ腫である請求項1～28のいずれかに記載の治療薬。
- [31] プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌が、プロテアーゼ阻害剤耐性を有する多発性骨髄腫である請求項1～28のいずれかに記載の治療薬。
- [32] プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌が、Hsp70, Hsp27またはBcl-2の発現が上昇している癌である請求項1～28のいずれかに記載の治療薬。
- [33] プロテアーゼ阻害剤が、プロテアーゼ阻害活性を有する抗体である請求項1～32のいずれかに記載の治療薬。
- [34] プロテアーゼ阻害剤が、プロテアーゼ阻害活性を有する低分子化合物である請求項1～32のいずれかに記載の治療薬。
- [35] プロテアーゼ阻害剤が、マトリックスメタロプロテアーゼ (Matrix metalloprotease) 阻害剤である請求項1～34のいずれかに記載の治療薬。
- [36] プロテアーゼ阻害剤が、ウロキナーゼプラスミノゲン活性化因子 (Urokinase Plasminogen Activator) 阻害剤である請求項1～34のいずれかに記載の治療薬。
- [37] プロテアーゼ阻害剤が、カテプシン (Cathepsin) 阻害剤である請求項1～34のいづ

れかに記載の治療薬。

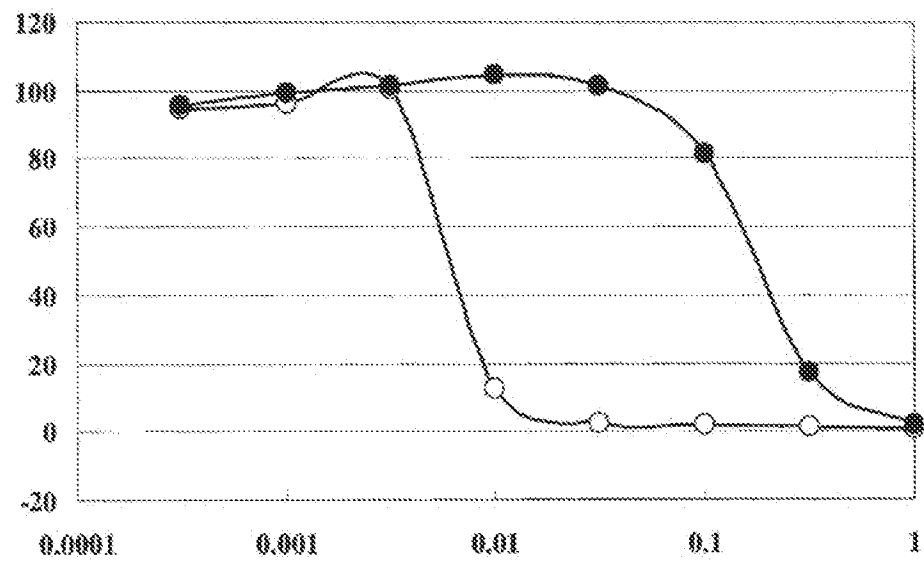
- [38] プロテアーゼ阻害剤が、プロテアソーム (Proteasome) 阻害剤である請求項1～34のいずれかに記載の治療薬。
- [39] プロテアーゼ阻害剤が、アミノペプチダーゼ (Aminopeptidase) 阻害剤である請求項1～34のいずれかに記載の治療薬。
- [40] プロテアソーム阻害剤がボルテゾミブである請求項38記載の治療薬。
- [41] プロテアソーム阻害剤がMG-132である請求項38記載の治療薬。
- [42] ヒートショック蛋白質90 (Hsp90) ファミリー蛋白質阻害剤を、それを必要とする患者に投与する工程を含む、プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌の治療方法。
- [43] ヒートショック蛋白質90 (Hsp90) ファミリー蛋白質阻害剤が請求項2～17のいずれかに記載のベンゾイル化合物またはその薬学的に許容される塩である、請求項42に記載の治療方法。
- [44] ヒートショック蛋白質90 (Hsp90) ファミリー蛋白質阻害剤が請求項18に記載のベンゾイル化合物またはその薬学的に許容される塩である、請求項42に記載の治療方法。
- [45] ヒートショック蛋白質90 (Hsp90) ファミリー蛋白質阻害剤が請求項19～28のいずれかに記載のベンゼン誘導体またはその薬学的に許容される塩である、請求項42に記載の治療方法。
- [46] プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌が請求項29～32のいずれかに記載の癌である、請求項42～45に記載の治療方法。
- [47] プロテアーゼ阻害剤が請求項33～41のいずれかである、請求項42～46に記載の治療方法。
- [48] プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌の治療剤の製造のための、ヒートショック蛋白質90 (Hsp90) ファミリー蛋白質阻害剤の使用。
- [49] ヒートショック蛋白質90 (Hsp90) ファミリー蛋白質阻害剤が請求項2～17のいずれかに記載のベンゾイル化合物またはその薬学的に許容される塩である、請求項48に記載の使用。
- [50] ヒートショック蛋白質90 (Hsp90) ファミリー蛋白質阻害剤が請求項18に記載のベンゾイル化合物またはその薬学的に許容される塩である、請求項48に記載の使用。

- [51] ヒートショック蛋白質90 (Hsp90) ファミリー蛋白質阻害剤が請求項19～28のいずれかに記載のベンゼン誘導体またはその薬学的に許容される塩である、請求項48に記載の使用。
- [52] プロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌が請求項29～32のいずれかに記載の癌である、請求項48～51に記載の使用。
- [53] プロテアーゼ阻害剤が請求項33～41のいずれかである、請求項48～52に記載の使用。
- [54] ヒートショック蛋白質90 (Hsp90) ファミリー蛋白質阻害剤として、請求項2～28のいずれかに記載のベンゾイル化合物もしくはベンゼン誘導体またはその薬学的に許容される塩を有効成分として含有する、Hsp70、Hsp27またはBcl-2の発現が上昇している癌の治療薬。
- [55] 請求項2～28のいずれかに記載のベンゾイル化合物もしくはベンゼン誘導体またはその薬学的に許容される塩を有効成分として含有するヒートショック蛋白質90 (Hsp90) ファミリー蛋白質阻害剤を、それを必要とする患者に投与する工程を含む、Hsp70、Hsp27またはBcl-2の発現が上昇している癌の治療方法。
- [56] Hsp70、Hsp27またはBcl-2の発現が上昇している癌の治療剤の製造のための、請求項2～28のいずれかに記載のベンゾイル化合物もしくはベンゼン誘導体またはその薬学的に許容される塩を有効成分として含有するヒートショック蛋白質90 (Hsp90) ファミリー蛋白質阻害剤の使用。

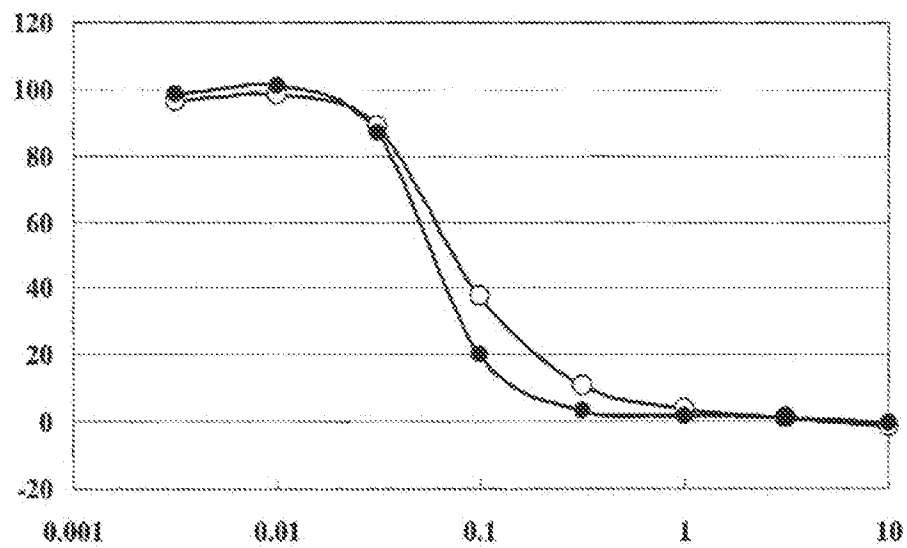
[図1]



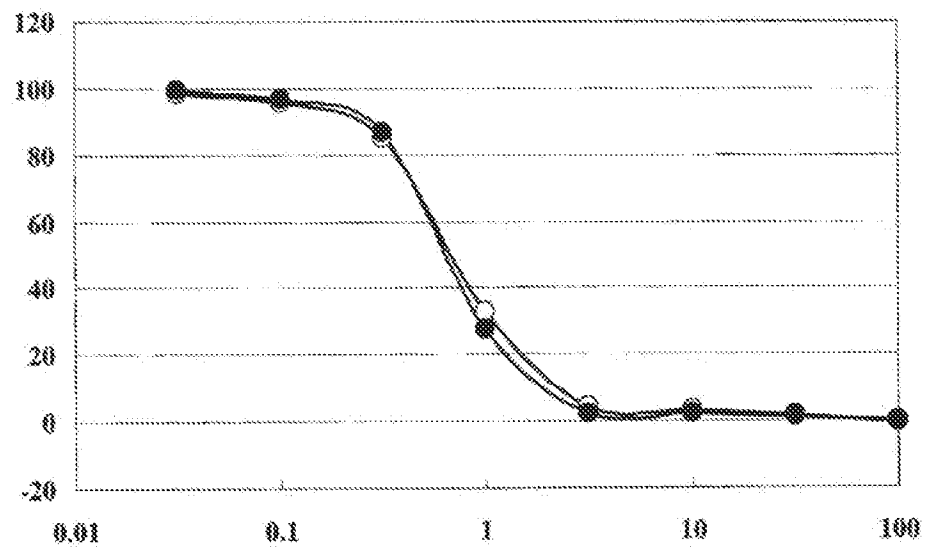
[図2]



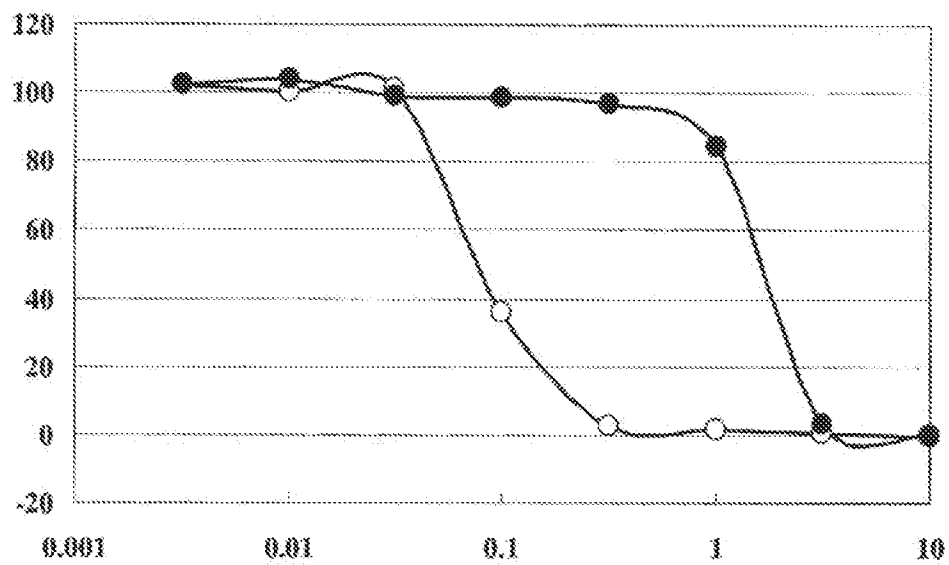
[図3]



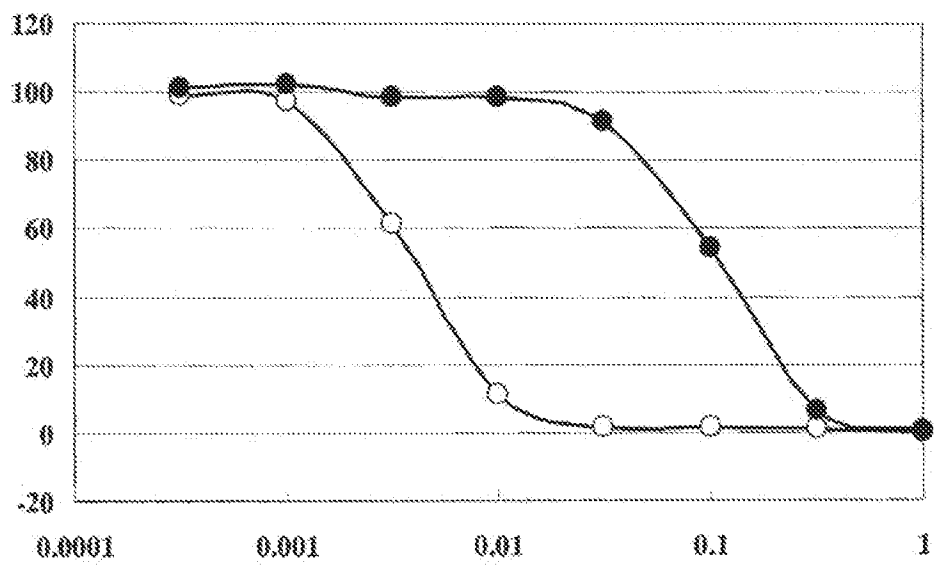
[図4]



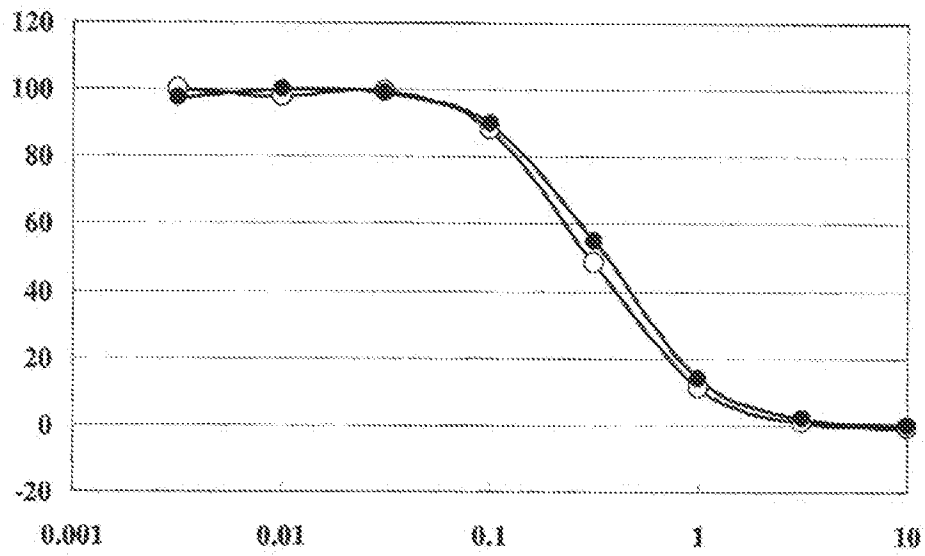
[図5]



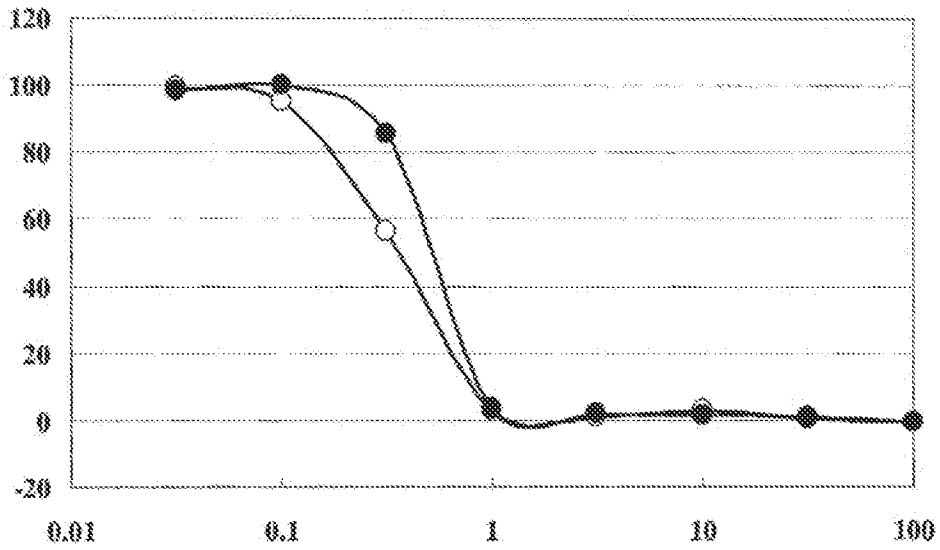
[図6]



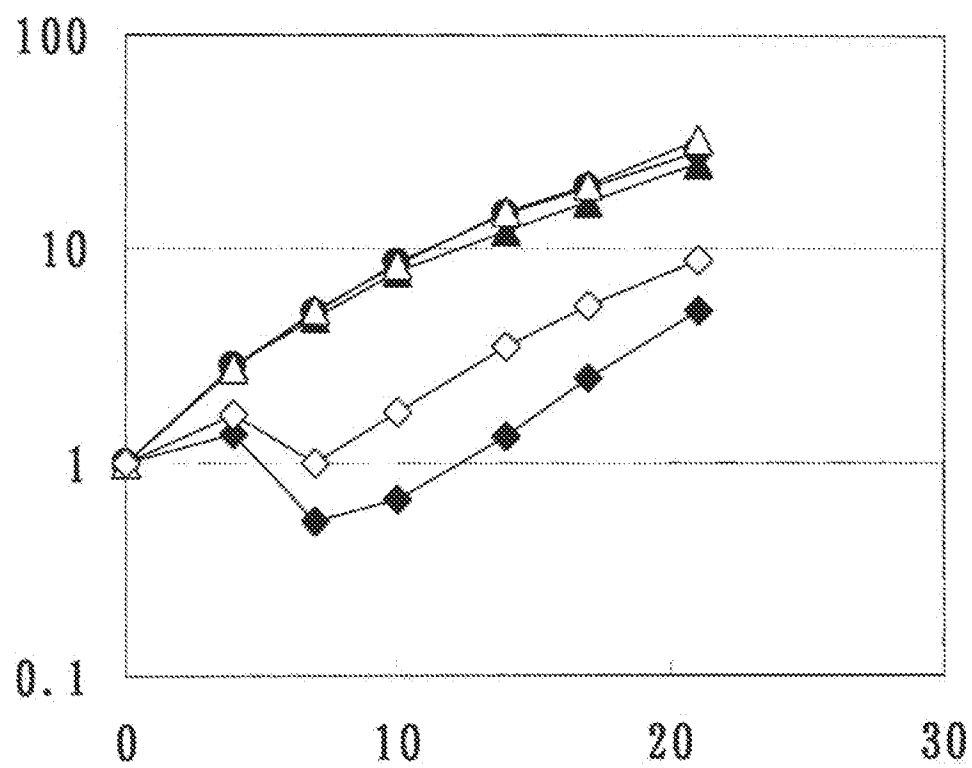
[図7]



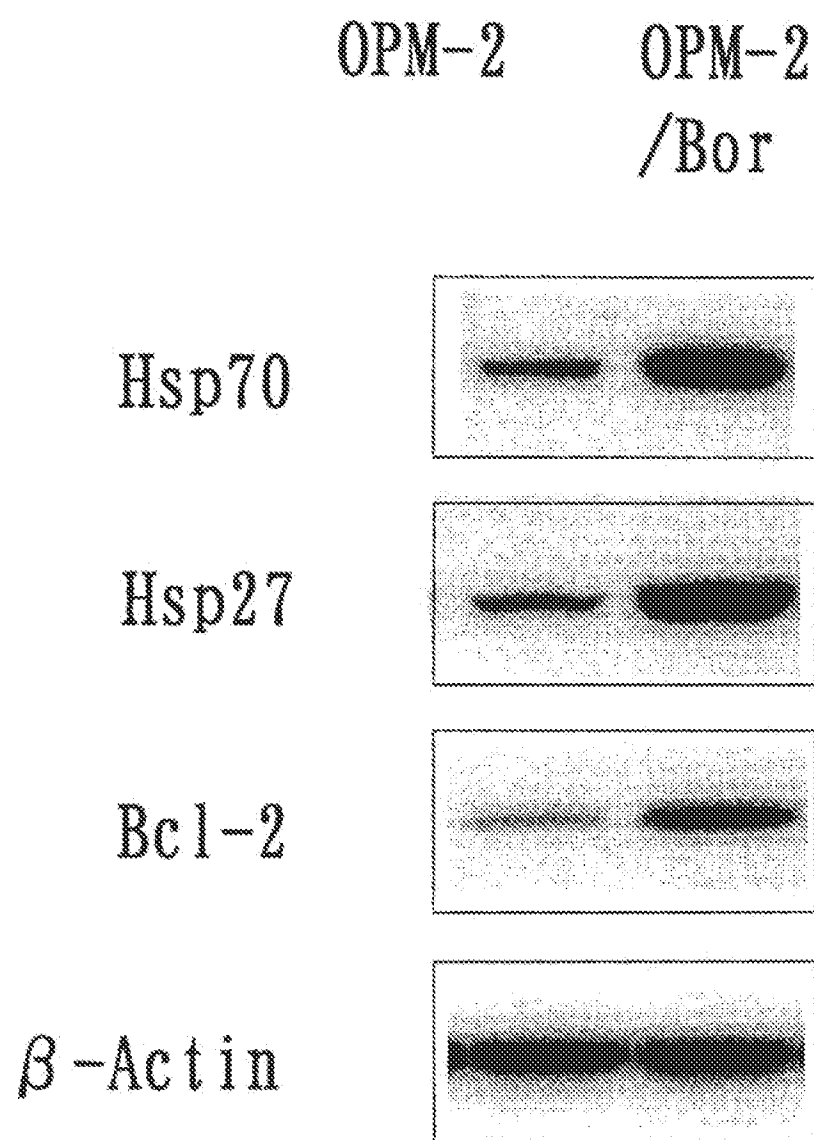
[図8]



[029]



[010]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2008/064887

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See extra sheet.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K45/00, A61K31/047, A61K31/12, A61K31/165, A61K31/216, A61K31/4402, A61K31/4406, A61K31/445, A61K31/472, A61K31/495, A61K31/5375, A61P35/00, A61P35/02, A61P43/00, C07D213/30, C07D213/40, C07D217/06, C07D295/08,

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2008
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2008 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2008

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

BIOSIS (STN), CAPLUS (STN), EMBASE (STN), MEDLINE (STN), JSTPlus (JDreamII), JMEDPlus (JDreamII), JST7580 (JDreamII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Mitsiades C.S. et al., Antimyeloma activity of heat shock protein-90 inhibition, Blood, 2006, Vol. 107, No. 3, pages 1029 to 1100, ISSN: 0006-4971	1, 38, 40, 48, 52, 53
Y	WO 2005/000778 A1 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.), 06 January, 2005 (06.01.05), Full text; particularly, compound 125; test example 1 & US 2007/0032532 A1 & EP 1642880 A1	2-37, 39, 41, 49-51, 54, 56
Y	WO 2005/063222 A1 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.), 14 July, 2005 (14.07.05), Full text; particularly, test example 1 & US 2007/0155813 A1 & EP 1704956 A1	2-37, 39, 41, 49-51, 54, 56

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
24 September, 2008 (24.09.08)Date of mailing of the international search report
07 October, 2008 (07.10.08)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2008/064887

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Shringarpure R. et al., Gene expression analysis of B-lymphoma cells resistant and sensitive to bortezomib, <i>British Journal of Haematology</i> , 2006, Vol.134, No.2, pages 145 to 156, ISSN: 0007-1048	32-37, 39, 41, 54, 56
Y	Mitsiades N. et al., Molecular sequelae of proteasome inhibition in human multiple myeloma cells, <i>Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.</i> , 2002, Vol.99, No.22, pages 14374 to 14379	32-37, 39, 41, 54, 56

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/064887

Continuation of A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
(International Patent Classification (IPC))

A61K45/00(2006.01)i, A61K31/047(2006.01)i, A61K31/12(2006.01)i,
A61K31/165(2006.01)i, A61K31/216(2006.01)i, A61K31/4402(2006.01)i,
A61K31/4406(2006.01)i, A61K31/445(2006.01)i, A61K31/472(2006.01)i,
A61K31/495(2006.01)i, A61K31/5375(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i,
A61P35/02(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i, C07D213/30(2006.01)i,
C07D213/40(2006.01)i, C07D217/06(2006.01)i, C07D295/08(2006.01)i,
C07D295/16(2006.01)i

(According to International Patent Classification (IPC) or to both national
classification and IPC)

Continuation of B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (International Patent Classification (IPC))

C07D295/16

Minimum documentation searched (classification system followed by
classification symbols)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2008/064887

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 42-47, 55

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 42 to 47 and 55 involve a method for treatment of a human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of PCT Rule 39.1(iv), to search.

2. ☐ Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest
the

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

<With respect to subject matters for search>

Claims 1, 29-39, 48, 52, 53, and 56 pertain to a therapeutic agent for cancers having resistance to substances defined by the desired property, such as a "protease inhibitor," "antibody having protease inhibitory activity," "low-molecular compound having protease inhibitory activity," "matrix metalloprotease inhibitor," "urokinase plasminogen activator inhibitor," "cathepsin inhibitor," "proteasome inhibitor," and "aminopeptidase inhibitor," the agent containing, as an active ingredient, a substance defined by the desired property, i.e., a "heat shock protein 90 (Hsp90) family protein inhibitor."

Claims 1, 29-39, 48, 52, 53, and 56 involve all substances having such property. However, the substances which are disclosed in the meaning of Article 5 of the PCT are limited to an extremely small part of the substances claimed. Those claims are hence considered to lack a support by the description in the meaning of Article 6 of the PCT.

Even when technical common sense at the time of the filing of this application is taken into account, the terms "heat shock protein 90 (Hsp90) family protein inhibitor," "protease inhibitor," "antibody having protease inhibitory activity," "low-molecular compound having protease inhibitory activity," "matrix metalloprotease inhibitor," "urokinase plasminogen activator inhibitor," "cathepsin inhibitor," "proteasome inhibitor," and "aminopeptidase inhibitor" cannot be used to specify the scope of the compounds having such property. Consequently, claims 1, 29-39, 48, 52, 53, and 56 do not comply also with the requirement of clearness as provided for in Article 6 of the PCT.

Therefore, a search was made for the relationship between the inhibition of a heat shock protein 90 (Hsp90) family protein and the treatment of a cancer having resistance to protease inhibitors, and for the therapeutic agent which is for use in the treatment of cancers having resistance to protease inhibitors described in the description and which contains as an active ingredient the substance specified in claims 2-28 and described in the description.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. 特別ページ参照

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. A61K45/00, A61K31/047, A61K31/12, A61K31/165, A61K31/216, A61K31/4402, A61K31/4406, A61K31/445, A61K31/472, A61K31/495, A61K31/5378, A61P35/00, A61P35/02, A61P43/00, C07D213/30, C07D213/40, C07D217/06, C07D205/08, C07D295/16

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2008年
日本国実用新案登録公報	1996-2008年
日本国登録実用新案公報	1994-2008年

国際調査で利用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

BIOSIS (STN), Caplus (STN), EMBASE (STN), MEDLINE (STN), JSTPlus (JDream1), MEDPlus (JDream1), JST7680 (JDream1)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	Mitsiades C.S. et al., Antimyeloma activity of heat shock protein-90 inhibition, Blood, 2006, Vol.107, No.3, pages 1029 to 1100, ISSN: 0006-4971	1, 38, 40, 48, 52, 53
Y		2-37, 39, 41, 49-51, 54, 56

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって目明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

24.09.2008

国際調査報告の発送日

07.10.2008

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)
郵便番号100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番8号

特許庁審査官 (権限のある職員)

小森 寛

4C

3762

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き)。 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	WO 2005/000778 A1 (協和発酵工業株式会社) 2005.01.06, 文献全体、特に、化合物 1 2 5、試験例 1 & US 2007/0032532 A1 & EP 1642880 A1	2-37, 39, 41, 49-51, 54, 56
Y	WO 2005/063222 A1 (協和発酵工業株式会社) 2005.07.14, 文献全体、特に、試験例 1 & US 2007/0155813 A1 & EP 1704856 A1	2-37, 39, 41, 49-51, 54, 56
Y	Shringarpure R. et al., Gene expression analysis of B-lymphoma cells resistant and sensitive to bortezomib, British Journal of Haematology, 2006, Vol.134, No.2, pages 145 to 156, ISSN: 0007-1048	32-37, 39, 41, 54, 56
Y	Mitsiades N. et al., Molecular sequelae of proteasome inhibition in human multiple myeloma cells, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 2002, Vol.99, No.22, pages 14374 to 14379	32-37, 39, 41, 54, 56

発明の属する分野の分類

A61K45/00(2006.01) i, A61K31/047(2006.01) i, A61K31/12(2006.01) i,
A61K31/165(2006.01) i, A61K31/216(2006.01) i, A61K31/4402(2006.01) i,
A61K31/4406(2006.01) i, A61K31/445(2006.01) i, A61K31/472(2006.01) i,
A61K31/495(2006.01) i, A61K31/5375(2006.01) i, A61P35/00(2006.01) i,
A61P35/02(2006.01) i, A61P43/00(2006.01) i, C07D213/30(2006.01) i,
C07D213/40(2006.01) i, C07D217/06(2006.01) i, C07D295/08(2006.01) i,
C07D295/16(2006.01) i

法第8条第3項（PCT第17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 4 2 - 4 7, 5 5 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、請求の範囲 4 2 - 4 7, 5 5 は、治療による人体の処置方法を包含するものであって、PCT規則39.1(iv)の規定により、国際調査をすることを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(b)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

次に第2条1項にこの国境川に二以上の支那がある場合この国境川を確定する要めた

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみのしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
☐ 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。

＜調査の対象について＞

請求の範囲1、29-39、48、52、53、56は、「ヒートショック蛋白質90 (Hsp90) ファミリー蛋白質阻害剤」という所望の性質により定義された物質を有効成分とする「プロテアーゼ阻害剤」、「プロテアーゼ阻害活性を有する抗体」、「プロテアーゼ阻害活性を有する低分子化合物」「マトリックスメタロプロテアーゼ (Matrix metalloprotease) 阻害剤」「ウロキナーゼプラスミノゲン活性化因子 (Urokinase Plasminogen Activator) 阻害剤」「カテプシン (Cathepsin) 阻害剤」「プロテアソーム (Proteasome) 阻害剤」「アミノペプチダーゼ (Aminopeptidase) 阻害剤」という所望の性質により定義された物質に耐性を有する癌の治療薬に関するものである。

そして、請求の範囲1、29-39、48、52、53、56は、そのような性質を有するあらゆる物質を包含するものであるが、PCT第5条の意味において開示されているのは、クレームされた物質のごくわずかな部分にすぎず、PCT第6条の意味での明細書の開示による裏付けを欠くものと認められる。

また、「ヒートショック蛋白質90 (Hsp90) ファミリー蛋白質阻害剤」、「プロテアーゼ阻害剤」、「プロテアーゼ阻害活性を有する抗体」、「プロテアーゼ阻害活性を有する低分子化合物」「マトリックスメタロプロテアーゼ (Matrix metalloprotease) 阻害剤」「ウロキナーゼプラスミノゲン活性化因子 (Urokinase Plasminogen Activator) 阻害剤」「カテプシン (Cathepsin) 阻害剤」「プロテアソーム (Proteasome) 阻害剤」「アミノペプチダーゼ (Aminopeptidase) 阻害剤」は、出願時の技術常識を勘案してもそのような性質を有する化合物の範囲を特定できないから、請求の範囲1、29-39、48、52、53、56は、PCT第6条における明確性の要件も欠いている。

よって、調査は、ヒートショック蛋白質90 (Hsp90) ファミリー蛋白質阻害とプロテアーゼ阻害剤耐性を有する癌の治療との関係について、及び、明細書に具体的に記載され、請求の範囲2-28に特定されている物質を有効成分とし、明細書に具体的に記載されているプロテアーゼ阻害剤に耐性を有する癌の治療剤について行った。